

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E ENGENHARIA DE  
MATERIAIS (PPGCEM)

BRUNO RAFAEL MACHADO

**DESENVOLVIMENTO DE FILMES DE  
PECTINA/QUITOSANA/GLICEROL PARA PRODUÇÃO DE  
EMBALAGENS BIODEGRADÁVEIS PARA ALIMENTOS**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

LONDRINA

2019

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E ENGENHARIA DE  
MATERIAIS (PPGCEM)

BRUNO RAFAEL MACHADO

**DESENVOLVIMENTO DE FILMES DE  
PECTINA/QUITOSANA/GLICEROL PARA PRODUÇÃO DE  
EMBALAGENS BIODEGRADÁVEIS PARA ALIMENTOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais da Universidade Tecnológica Federal do Paraná - Câmpus Londrina, como requisito parcial para obtenção do grau de “Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais”.

Orientador(a): Prof. Dr. Alessandro Francisco Martins

Co-orientador(a): Prof. Dr. Elton Guntendorfer Bonafé

**LONDRINA**

**2019**

## TERMO DE LICENCIAMENTO

Esta Dissertação está licenciada sob uma Licença Creative Commons *atribuição uso não-comercial/compartilhamento sob a mesma licença 4.0 Brasil*. Para ver uma cópia desta licença, visite o endereço <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/> ou envie uma carta para Creative Commons, 171 Second Street, Suite 300, San Francisco, Califórnia 94105, USA.



Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Biblioteca UTFPR - Câmpus Londrina

M149d Machado, Bruno Rafael

Desenvolvimento de filmes de pectina/quitosana/glicerol para produção de embalagens biodegradáveis para alimentos / Bruno Rafael Machado. - Apucarana : [s.n.], 2019.

87 f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Alessandro Francisco Martins

Coorientador: Prof. Dr. Elton Guntendorfer Bonafé

Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais.

Londrina, 2019.

Bibliografia: f. 72-87.

1. Embalagens. 2. Filmes finos. 3. Polissacarídeos. 4. Pectina. 5. Quitosana. I. Martins, Alessandro Francisco, orient. II. Bonafé, Elton Guntendorfer, coorient. III. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. IV. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais. V. Título.

CDD: 620.11



Ministério da Educação  
**Universidade Tecnológica Federal do Paraná**  
Campus Londrina  
Programa De Pós-Graduação Em Ciência E  
Engenharia de Materiais



---

**TERMO DE APROVAÇÃO**

**DESENVOLVIMENTO DE FILMES DE  
PECTINA/QUITOSANA/GLICEROL PARA PRODUÇÃO DE  
EMBALAGENS BIODEGRADÁVEIS PARA ALIMENTOS**

por

BRUNO RAFAEL MACHADO

Dissertação apresentada no dia 10 de dezembro de 2019 ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Londrina. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho **APROVADO**.

---

Prof. Dr. Alessandro Francisco Martins

(UTFPR – Programa De Pós-Graduação Em Ciência E Engenharia De Materiais – PPGCEM)  
Orientador

---

Prof. Dr. Bruno Henrique Vilsinski

(UEM – Departamento de Química)

---

Prof. Dr. Johny Paulo Monteiro

(UTFPR – Programa De Pós-Graduação Em Ciência E Engenharia De Materiais – PPGCEM)

**Obs:** A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Programa de Mestrado em Ensino de Matemática.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus, por estar sempre do meu lado, por me conceder força e perseverança em momentos de exaustão, me guiando sempre pelo melhor caminho, transformando os obstáculos em aprendizagem, ajudando este teu filho a concluir mais uma etapa em sua vida.

A minha mãe, Maria de Lourdes, obrigado por tudo. Pelo amor, pelo incentivo, pela coragem e me ajudar a ser determinado. Mãe, você é meu espelho, me ajudou em muitos desafios durante esta jornada e sempre torceu pela minha vitória e me levantou nas derrotas. Aos demais familiares, pelo carinho, pelas alegrias e pelas palavras de confiança, para que eu sempre seguisse adiante em busca dos meus sonhos.

Agradecer aos professores Johny Monteiro e Sandro Venter, pelos materiais fornecidos para o desenvolvimento deste trabalho e também pelo companheirismo.

Ao meu co-orientador, Elton Guntendorfer Bonafé, um agradecimento especial por suas orientações, dicas, companheirismo, acreditando sempre no meu potencial para que este mestrado fosse concluído.

Ao meu orientador, professor Alessandro Francisco Martins, “Pai Alessandro”, meu eterno muito obrigado por suas contribuições, orientações, brincadeiras, dicas, cobranças e por sempre acreditar em mim. O termo “pai” não é utilizado somente por ser meu orientador, mas por me apoiar no momento mais difícil em minha vida. Você sempre acreditou em mim, mais do que eu mesmo, sempre me viu como um bom e exemplar aluno, dedicado em tudo aquilo que faz.

Aos membros da banca, agradeço por aceitarem o convite de participação.

Ao programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais e à Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR Câmpus Londrina/Apucarana, agradecer pela oportunidade de conclusão de mestrado, para obtenção do título de mestre em Ciência e Engenharia de Materiais.

Aos meus amigos, que conviveram diariamente no laboratório (LaMMAC) e estiveram comigo ao longo desta jornada, obrigado por existirem em minha vida, agradeço pelos momentos divertidos, pelas piadas, pelos conselhos e pela ajuda diante das dificuldades e pelo auxílio durante algumas análises. Também agradeço

em especial a professora Patrícia Salomão por todo auxílio nas análises mecânicas dos filmes na Universidade Estadual de Londrina (UEL).

Por fim, dedico este trabalho e esta conquista, ao meu pai Antoninho (*in memoriam*). Pai, você é minha maior saudade. Agradeço por todos estes anos juntos. Foram anos valiosos, de amor, companheirismo, ensinamentos e dedicação para criar seus filhos. Se estou concluindo esta etapa é por você e para lhe dar muito orgulho como eu lhe prometi. Seu xodó te ama para se

MACHADO, Bruno Rafael. **DESENVOLVIMENTO DE FILMES DE PECTINA/QUITOSANA/GLICEROL PARA PRODUÇÃO DE EMBALAGENS BIODEGRADÁVEIS PARA ALIMENTOS**. 90f. Dissertação de mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Apucarana/Londrina, 2019.

## RESUMO

A reciclagem de embalagens plásticas não tem acontecido de forma eficaz, principalmente pela presença de contaminantes sintéticos (tintas e corantes) nas embalagens e descarte incorreto. Portanto, esse estudo aborda o preparo de hidrogéis (filmes) a base de polissacarídeos biodegradáveis (pectina e quitosana) contendo diferentes conteúdos de glicerol (5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40% em massa). Os filmes foram preparados por meio de blendas de pectina/quitosana (67/33 m/m) obtidas em HCl 0,10 mol L<sup>-1</sup> na presença de glicerol, seguido da evaporação do solvente. Filmes lavados em meio aquoso e filmes não lavados foram obtidos e caracterizados por meio de medidas de propriedades mecânicas, microscopia eletrônica de varredura (SEM), espectroscopia de fotoelétrons de raios-X (XPS), análise termogravimétrica, e medidas de ângulo de contato. O filme não lavado contendo 40% em massa de glicerol apresentou o melhor resultado de elasticidade até a ruptura ( $\varepsilon = 19\%$ ). Por outro lado, os filmes lavados e preparados, com teores de glicerol acima de 15%, apresentaram elevada resistência à tração ( $\sigma = > 46$  MPa). Após lavagem, filmes contendo teores de glicerol acima de 15% se reorganizam, promovendo aumento da resistência à tração. Medidas de ângulo de contato e análise termogravimétricas confirmaram a reorganização das cadeias poliméricas nos filmes lavados. Os espectros de XPS confirmaram a presença dos polissacarídeos, como também do glicerol na superfície dos filmes. Os filmes apresentaram citocompatibilidade sobre células tronco do tecido adiposo de humanos (células ADSCs) e atividade antimicrobiana e antiadesiva contra *Escherichia coli*. Os filmes promoveram uma baixa taxa de permeabilidade ao vapor de água e gás oxigênio e, ainda, atuaram como barreira à luz UV. O filme com 40% de glicerol pode atuar como embalagem de tomates.

**Palavras-chave:** Embalagem, Filmes, Polissacarídeos, Pectina, Quitosana, Glicerol

MACHADO, Bruno Rafael. **DEVELOPMENT OF PECTIN/CHITOSAN/ GLYCEROL FILMS FOR PRODUCTION OF BIODEGRADABLE FOOD PACKAGES.** 90f. Master dissertation - Postgraduate Program in Materials Science and Engineering, Federal University of Technology, Apucarana/Londrina Campus, 2019.

### **ABSTRACT**

Recycling of plastic packaging has not been effective, mainly due to the presence of synthetic contaminants (paints and dyes) in the packs and incorrect disposal. Therefore, this study addresses the preparation of hydrogels (films) based on biodegradable polysaccharides (pectin and chitosan) containing different contents of glycerol (5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 and 40% in mass). The films were prepared from pectin/chitosan blends (67/33 wt/at) obtained in 0.10 mol L<sup>-1</sup> HCl at the presence of glycerol, followed by the solvent evaporation. Washed and unwashed films were obtained and characterized by mechanical measurements, scanning electron microscopy (SEM), X-ray photoelectron spectroscopy (XPS), thermogravimetric analysis, and contact angle measurements. An unwashed film containing 40% glycerol content showed the best result of elasticity until rupture ( $\varepsilon = 19\%$ ). On the other hand, washed films with glycerol contents above 15%, presented high tensile strength ( $\sigma = > 46$  MPa). After washing, films containing glycerol above 15% reorganize, increasing the tensile strength. Contact angle measurements and thermogravimetric analysis confirmed the reorganization of the polymeric chains in the washed films. XPS spectra confirmed the presence of polysaccharides, as well as the glycerol on the film surfaces. The films presented cytocompatibility onto human adipose stem cells (ADSCs cells) and antimicrobial and anti-adhesive activities against *Escherichia coli*. The films promoted a low permeability rate to water vapor and oxygen gas and also acted as a barrier to UV light. The film containing 40% glycerol content can act as packaging for tomatoes.

**Keywords:** Packaging, Films, Polysaccharides, Pectin, Chitosan, Glycerol

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Utilização de plásticos em diversos setores (2015).....	10
<b>Figura 2.</b> Projeção para 2025 mediante ao lixo plástico mal gerenciado.....	12
<b>Figura 3.</b> Estrutura química do glicerol .....	20
<b>Figura 4.</b> Estrutura química da quitosana (unidades desacetiladas). .....	23
<b>Figura 5.</b> Estrutura da pectina. ....	24
<b>Figura 6.</b> Medidas de resistência à tração (Figs. 6A e 6B) e resultados de $\epsilon\%$ (Figs. 6C e 6D) dos filmes não lavados e lavados na presença de GLI (5 a 40%). Diferenças significativas estão indicadas (* indica $p \leq 0,05$ ). .....	36
<b>Figura 7.</b> Curvas de tensão versus deformação dos filmes PT/QT obtidos com diferentes conteúdos de GLI. ....	37
<b>Figura 8.</b> Espectros XPS (survey) das superfícies dos filmes não lavados (FA) e lavados (FD) contendo diferentes conteúdos de GLI. ....	42
<b>Figura 9.</b> Espectros XPS de alta resolução de amostras não lavadas e lavadas: envelope C1s. ....	45
<b>Figura 10.</b> Imagens digitais das superfícies dos filmes após o contato com uma gota de água em diferentes tempos ( $t = 0$ e 10 min).....	49
<b>Figura 11.</b> Curvas TGA/DTG: QT (pó) e filme de PT puro não-lavado e sem GLI, GLI puro, filmes não lavados e lavados com 15 e 40% de GLI. ....	51
<b>Figura 12.</b> Imagens SEM dos filmes não lavados e lavados de PT/QT contendo diferentes concentrações de GLI (imagens obtidas na ampliação 1000 $\times$ e escala 10 $\mu\text{m}$ ).....	55
<b>Figura 13.</b> Resultados de citotoxicidade (%) sobre células tronco do tecido adiposo (ADSCs) após 24 h de incubação determinados pelo teste LDH. ....	57
<b>Figura 14.</b> Imagens digitais das placas de cultura de E. coli contendo discos (6,0 mm) dos filmes FA40 e FD15, após 6 e 24 h de incubação a 37 °C (pH 7,4). .....	59
<b>Figura 15.</b> Imagens SEM do filme não lavado (FA40) e lavado (FD15) incubados com E. coli após 24 h. ....	61
<b>Figura 16.</b> Espectros UV-Vis dos filmes com 15 e 40% de GLI.....	65
<b>Figura 17.</b> Imagens digitais de tomates-cerejas embalados com os filmes FA40 e PVC depois de 0, 9 e 18 dias. Amostra 1 = filme FA40 acondicionado fora da	

geladeira (temperatura ambiente); Amostra 2 = filme PVC acondicionado fora da  
geladeira (temperatura ambiente) ..... 69

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Condições experimentais utilizadas no preparo dos filmes.....	28
<b>Tabela 2.</b> Medidas de ângulo de contato realizadas pela adição de uma gota de água na superfície dos filmes FA e FD ( $t = 10$ min). .....	47
<b>Tabela 3:</b> Resultados das taxas de permeabilidade ao vapor de água (TPVA) e gás oxigênio (TPO <sub>2</sub> ) determinadas sobre os filmes FA40 e FD15. ....	63
<b>Tabela 4:</b> Valores de transparência dos filmes FA15, FA40, FD15 e FD40.....	66

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ADSC** = células tronco do tecido adiposo humano
- ANVISA** = Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- BC** = celulose bacteriana
- BHI** = infusão de cérebro e coração
- CMC** = carboximetilcelulose
- DMEM** = *Dulbecco Modified Eagle Medium*
- DPPG** = dipalmitoilfosfatidilglicerol
- EMC** = matriz extracelular
- FA** = filmes antes do processo de lavagem
- FD** = filmes após o processo de lavagem
- GG** = goma guar
- GLI** = glicerol
- IC** = *iota*-carragena
- INT** = sal de tetrazólio
- LDH** = lactato desidrogenase
- MHA** = Agar Müller-Hinton
- PECs** = complexo polieletrólítico
- PT** = pectina
- PVC** = policloreto de vinila
- PVP** = polivinilpirrolidona
- QT** = quitosana
- SEM** = microscopia eletrônica de varredura
- TGA** = análise termogravimétrica
- TPVA** = taxa de permeabilidade ao vapor de água
- TPO<sub>2</sub>** = taxa de permeabilidade ao oxigênio
- XPS** = Espectroscopia de fotoelétrons de raios-X

## SUMÁRIO

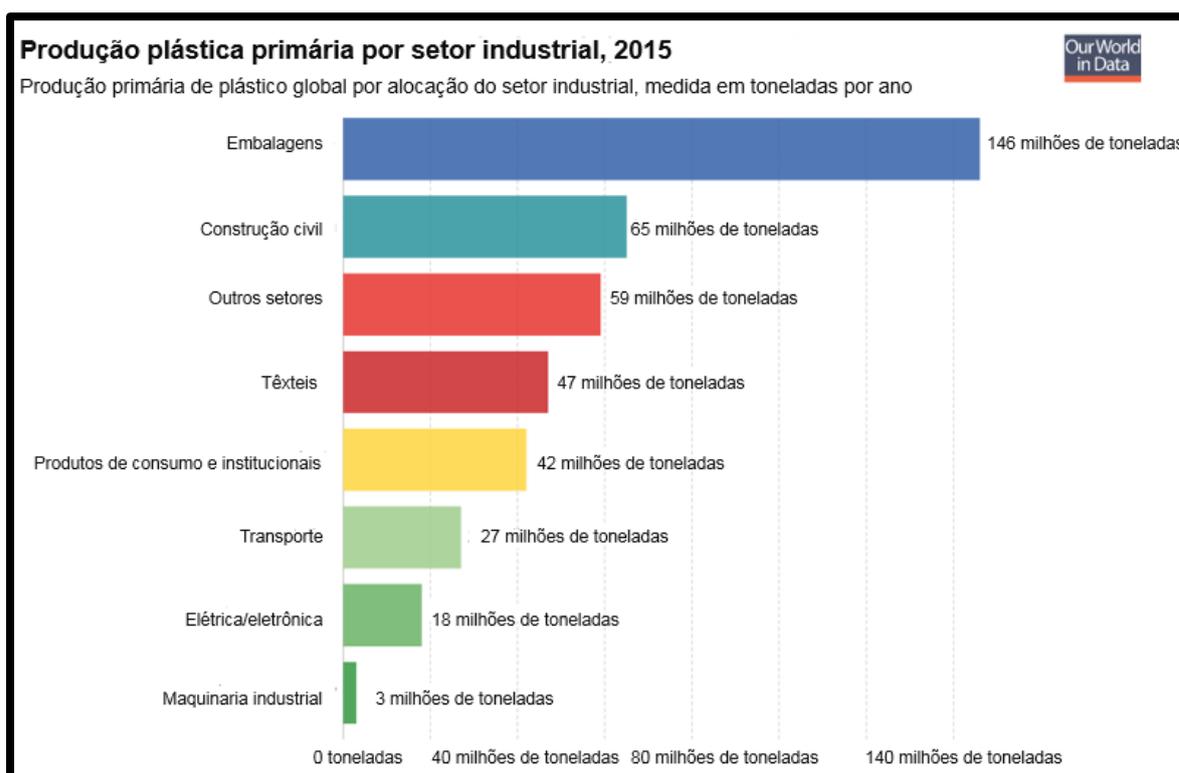
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>10</b>
1.1	EMBALAGENS PLÁSTICAS DE ALIMENTOS E IMPACTOS AMBIENTAIS.....	10
1.2	HIDROGÉIS.....	15
1.3	POLISSACARÍDEOS E EMBALAGENS DE ALIMENTOS .....	16
1.4	GLICEROL COMO AGENTE PLASTIFICANTE .....	19
1.5	QUITOSANA E PECTINA: PRODUÇÃO DE FILMES .....	22
1.6	1.6 MATERIAIS FÍSICOS DE PECTINA/QUITOSANA E APLICAÇÕES.....	25
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>27</b>
2.1	OBJETIVO GERAL .....	27
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	27
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>28</b>
3.1	MATERIAIS.....	28
3.2	PREPARO DOS FILMES .....	28
3.3	CARACTERIZAÇÃO .....	29
3.3.1	Medidas das Propriedades Mecânicas .....	29
3.3.2	Espectroscopia de Fotoelétrons Excitados por Raio-X .....	29
3.3.3	Medidas de Ângulo de Contato .....	30
3.3.4	Análise Termogravimétrica .....	30
3.3.5	Microscopia Eletrônica de Varredura.....	31
3.4	ENSAIO DE CITOTOXICIDADE.....	31
3.5	ENSAIO ANTIMICROBIANO.....	32
3.5.1	Microrganismo Utilizado e Condições de Crescimento .....	32
3.5.2	Ensaio Antimicrobiano via Método Disco-Difusão.....	33
3.5.3	Ensaio de Adesão e Proliferação de <i>E. coli</i> .....	33
3.6	PROPRIEDADES DE BARREIRA.....	34
3.6.1	Permeabilidade .....	34
3.6.2	Propriedade de Barreira a Luz.....	34
3.7	APLICAÇÃO COMO EMBALAGEM PARA ALIMENTOS .....	35
3.8	ESTATÍSTICA.....	35
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>36</b>
4.1	PROPRIEDADES MECÂNICAS.....	36
4.2	ESPECTROSCOPIA DE FOTOELÉTRONS DE RAIOS-X.....	39
4.3	MEDIDAS DE ÂNGULO DE CONTATO.....	46
4.4	ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA .....	50

4.5	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA .....	53
4.6	CITOTOXICIDADE DOS FILMES .....	56
4.7	ENSAIO ANTIMICROBIANO VIA MÉTODO DISCO-DIFUSÃO .....	58
4.8	ENSAIO DE ADESÃO E PROLIFERAÇÃO DE BACTÉRIAS .....	60
4.9	TAXAS DE PERMEABILIDADE A VAPOR DE ÁGUA E OXIGÊNIO .....	63
4.10	PROPRIEDADE DE BARREIRA À LUZ .....	64
4.11	EMBALAGEM DE ALIMENTOS .....	67
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>71</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>72</b>

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 EMBALAGENS PLÁSTICAS DE ALIMENTOS E IMPACTOS AMBIENTAIS

A produção de embalagens plásticas tem crescido abruptamente no decorrer dos anos, sendo estimado o comércio de aproximadamente 146 milhões de toneladas no ano de 2015 (Fig. 1) (RITCHIE, ROSER, 2018).



**Figura 1. Utilização de plásticos em diversos setores (2015).**

Fonte: RITCHIE, ROSER, (2018) (com adaptações).

A elevada utilização e produção de embalagens plásticas tem sido impulsionada pela crescente demanda de alimentos de alta qualidade e necessidade de aumento do tempo de prateleira (LICCIARDELLO, 2017). A principal função das embalagens é proteger e conservar o alimento, assegurando a manutenção das propriedades organolépticas e higiene mediante condições externas e internas. Sendo assim, as embalagens devem assegurar ou minimizar a contaminação por microrganismos, a entrada de gases, vapor de água, poeira, minimizar impactos mecânicos, e outros (VITALE, et al., 2018; YOUSSEF, EL-SAYED, 2018). A resolução 91 de 11 de maio de 2001 da Agência Nacional de

21 Vigilância Sanitária (ANVISA), dispõe que as embalagens em contato direto com os  
22 alimentos devem ser fabricados de modo que não haja migração de componentes  
23 indesejáveis, tóxicos ou contaminantes para os alimentos. Caso haja migração, as  
24 proporções não podem superar os limites máximos estabelecidos de migração total  
25 ou específica. A migração não pode representar um risco para saúde humana ou  
26 ocasionar mudanças na composição ou nas características sensoriais dos  
27 alimentos (ANVISA Nº 91/2001). Estas funções possibilitam o aumento do prazo  
28 de validade, minimizando a perda e desperdício de produtos alimentícios (HAN, et  
29 al., 2018).

30 Todas as funções de uma embalagem são designadas para as embalagens  
31 primárias, ou seja, aquelas que estão em contato direto com o produto alimentício,  
32 como bandejas, garrafas, entre outras. Essas embalagens são comumente  
33 encontradas nas residências de consumidores, pois são úteis em atividades  
34 domésticas (FERREIRA, ALVES, COELHO, 2016). O emprego de plásticos para  
35 embalagens alimentícias está relacionado ao seu baixo custo e suas propriedades  
36 mecânicas desejáveis, destacando-se a flexibilidade, baixo peso, bom desempenho  
37 mecânico e transparência (LICCIARDELLO, 2017). O ajuste dessas características  
38 permite a obtenção de embalagens que mantêm a permanência do frescor dos  
39 alimentos por um tempo maior, evitando a presença de contaminantes (FERREIRA,  
40 ALVES, COELHO, 2016).

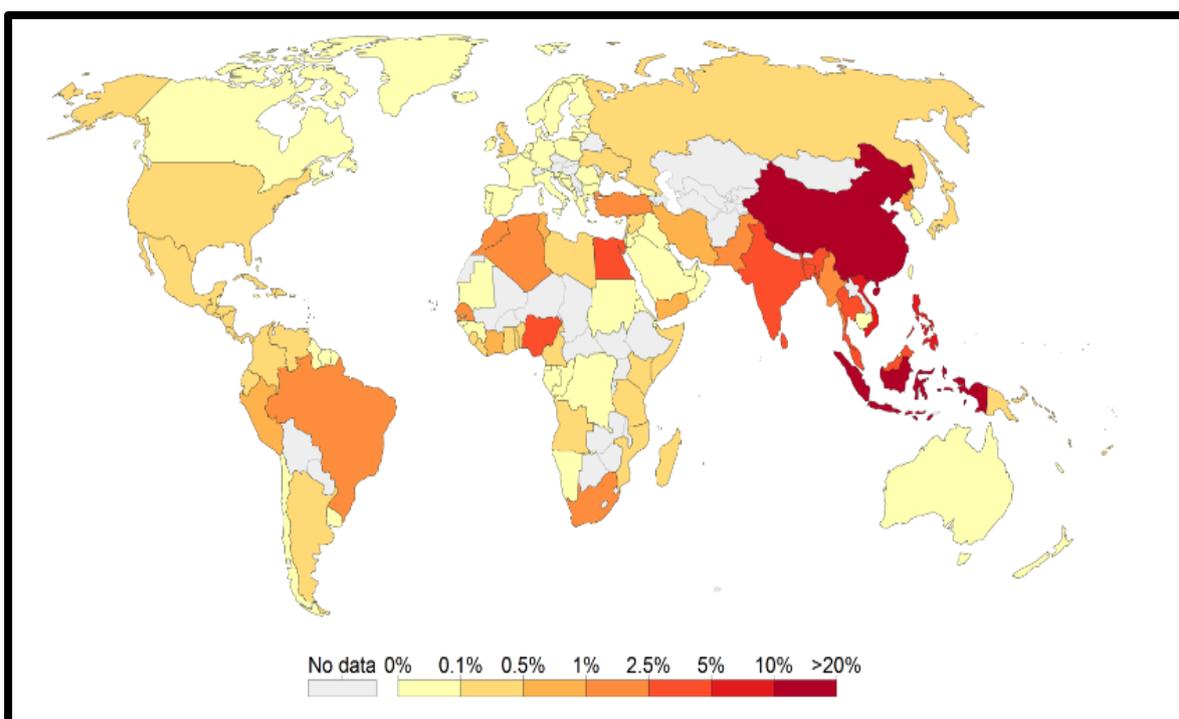
41 A elevada durabilidade das embalagens plásticas devido à resistência ao  
42 ataque de bactérias (ROCHA, SOUZA, PRENTICE, 2018) e a falta de  
43 biodegradabilidade têm proporcionado o acúmulo de materiais plásticos no meio  
44 ambiente. Esse efeito tem se tornado um grande problema ambiental (DILKES-  
45 HOFFMAN, et al., 2018). Os plásticos não biodegradáveis estão poluindo os  
46 ambientes aquáticos e solos, interferindo na manutenção da vida de animais. O  
47 descarte inadequado desses geram problemas ambientais devido ao acúmulo em  
48 ecossistemas. Isso acontece em decorrência da sua resistência à degradação  
49 microbiana (ROCHA, SOUZA, PRENTICE, 2018).

50 A dificuldade de reciclagem ou da reutilização de embalagens plásticas para  
51 alimentos estão vinculados à presença de vários tipos de contaminantes. A exemplo  
52 de corantes, tintas de impressão, adesivos e, em diversos casos, contaminação  
53 orgânica, seja pela presença de alimentos embalados em estado de decomposição

54 ou não (BRIASSOULIS, GIANNOULIS, 2018). Além disso, tratamentos  
55 inadequados aplicados a estes resíduos, como descarte em aterros e incineração,  
56 colocam em risco a saúde humana e o meio ambiente (YOUSSEF, EL-SAYED,  
57 2018).

58 A Fig. 2 apresenta uma projeção do aumento do conteúdo de plástico no  
59 planeta para o ano de 2025, mediante o gerenciamento incorreto de materiais  
60 plásticos, os quais são descartados no meio ambiente, aterros sanitários ou  
61 diretamente nos oceanos (RITCHIE, ROSER, 2018).

62



63

64

65 **Figura 2.** Projeção do aumento de consumo de plásticos para 2025 mediante ao lixo plástico mal  
66 gerenciado

67 **Fonte:** RITCHIE, ROSER, (2018).

68

69 Novas informações aos consumidores possibilitam a conscientização no  
70 que diz respeito à reciclagem dos materiais plásticos. Além disso, há crescente  
71 busca pelo desenvolvimento de produtos ecologicamente corretos, que sejam  
72 seguros e possuam baixa toxicidade para saúde humana e meio ambiente  
(LICCIARDELLO, 2017).

73

74 A crescente busca pelo desenvolvimento de embalagens de baixo custo,  
75 por meio do uso de materiais renováveis, tais como polissacarídeos e proteínas  
(BATISTA, et al., 2019). A utilização de polissacarídeos como a celulose é um

76 exemplo. Jancy e colaboradores (2020) desenvolveram filmes reforçados com  
77 nanopartículas de celulose a partir da parte não comestível da jaca (*Artocarpus*  
78 *heterophyllus*) para produção de embalagens. Para formação dos filmes, foram  
79 utilizados álcool polivinílico, nanopartículas de celulose e óleo essencial de  
80 sementes de erva doce. Foram preparados 30 tipos de filmes e feito a otimização  
81 estatística para escolha da melhor amostra. Em todas as amostras foram avaliadas  
82 a resistência à tração, o alongamento até a ruptura, a atividade antioxidante e  
83 atividade antimicrobiana contra *E. coli*. A análise estatística demonstrou que o filme  
84 contendo 7% de álcool polivinílico, 5% de nanopartículas de celulose e 0,6 mL/100  
85 mL de óleo essencial de semente de erva doce apresentou os melhores resultados,  
86 com resistência à tração de  $11,49 \pm 0,18$  MPa, alongamento até a ruptura de  $118,21$   
87  $\pm 0,91\%$ , atividade antioxidante de  $42,81 \pm 0,71\%$  e atividade antimicrobiana de  $4,78$   
88  $\pm 0,03\%$ . Os resultados apresentados foram superiores quando comparados aos  
89 filmes de álcool polivinílico. As diversas características apresentadas pelos filmes  
90 permitiram aos autores concluir que os filmes desenvolvidos neste trabalho são  
91 propícios para utilização em embalagens para alimentos (JANCY, SHRUTHY,  
92 PREETHA, 2020).

93 Os avanços na área de ciências dos materiais e o desejo de manufaturar  
94 alimentos isentos de aditivos e que possuam maior durabilidade tem chamado  
95 atenção de pesquisadores. Estes buscam o desenvolvimento de embalagens  
96 plásticas eficientes e biodegradáveis. Busca-se a produção de embalagens  
97 sustentáveis, que possam ter atividades antimicrobiana e anti-adesiva para evitar a  
98 proliferação e adesão de bactérias, respectivamente. Ademais, procura-se reduzir  
99 os impactos ambientais gerados pelos plásticos não biodegradáveis (HAN, et al.,  
100 2018; GARCIA, SHIN, KIM, 2018).

101 Para considerar a embalagem de um alimento como sustentável, todas as  
102 etapas do processo de sua produção precisam: i) fazer uso de matéria-prima à base  
103 de materiais biodegradáveis (recursos renováveis), tornando os recursos fósseis  
104 dispensáveis no processo de produção de plásticos; ii) a produção deve empregar  
105 processos que requerem baixa demanda de energia e, ainda não promova  
106 poluição; e iii) materiais que possam ser reciclados (LICCIARDELLO, 2017).

107 Nesta vertente, hidrogéis têm sido utilizados para o desenvolvimento de  
108 embalagens de alimentos, visando o controle de umidade e aumento de

109 durabilidade (BATISTA, et al., 2019). Em especial, hidrogéis à base de polímeros  
110 naturais (polissacarídeos e proteínas) têm sido considerados uma alternativa  
111 promissora para a produção de embalagens para alimentos, pois suas  
112 características de biocompatibilidade, biodegradabilidade, possível atividade  
113 antimicrobiana e baixa citotoxicidade podem contribuir para o aumento da  
114 durabilidade dos alimentos nas prateleiras. Além disso, a integração de hidrogéis  
115 naturais em sistemas de embalagens constitui uma tecnologia alternativa e  
116 promissora em termos de evolução e preservação do meio ambiente, propiciando  
117 melhorias na qualidade, segurança e estabilidade dos alimentos e diminuindo os  
118 impactos causados ao meio ambiente (BATISTA, et al., 2019).

119 As informações acima podem ser confirmadas pelo trabalho desenvolvido  
120 por Bandyopadhyay e colaboradores (2019) com o desenvolvimento de filmes  
121 (hidrogéis) à base de celulose bacteriana (BC) e goma guar (GG) modificados com  
122 polivinilpirrolidona/carboximetilcelulose (PVP/CMC) para embalagem de amoras.  
123 Foram desenvolvidos quatro tipos de filmes, sendo: filme PVP/CMC (50/50), filme  
124 PVP/CMC/BC (50/25/25), filme PVP/CMC/GG (50/25/25) e o filme de  
125 PVP/CMC/BC/GG (50/25/17/13). Todos os filmes foram preparados em 150 mL de  
126 água, incorporados com 1,5 mL de glicerol, 3 g de ágar e 1,5 g de polietileno glicol.  
127 Os resultados demonstraram que o filme PVP/CMC/BC/GG apresentou melhores  
128 propriedades de barreira contra vapor de água, gás oxigênio e solubilidade em  
129 água. As propriedades mecânicas deste filme indicaram resistência à tração de  $25,9$   
130  $\pm 1,1$  MPa, alongamento até a ruptura de  $21 \pm 3\%$  e adesividade de 0,01 N. Além  
131 disso, o filme PVP/CMC/BC/GG, apresentou superfície mais hidrofóbica, com  
132 ângulo de contato de  $76,16^\circ \pm 1,1$  do lado superior e  $46,4^\circ \pm 0,8$  do lado inferior. Na  
133 utilização dos filmes para embalagem de amoras, verificou-se que os filmes  
134 mantiveram a cor e a textura dos frutos por 15 dias. Os autores analisaram as  
135 modificações estruturais nos filmes antes e após embalar os amoras e verificaram  
136 que somente o filme de PVP/CM/GG apresentaram modificações em sua estrutura.  
137 O conjunto destes resultados indicaram que o filme PVP/CMC/BC/GG apresentou  
138 as melhores propriedades para utilização em embalagens para alimentos  
139 (BANDYOPADHYAY, et al., 2019).

140

141

## 1.2.HIDROGÉIS

142

143 Os hidrogéis consistem em redes tridimensionais de cadeias poliméricas,  
144 caracterizados pela grande capacidade de absorção de água ou fluidos biológicos  
145 sem que haja perda de sua estrutura 3D (BATISTA, et al., 2019; MAHINROOSTA,  
146 et al., 2018). A capacidade de absorção de água destes materiais deve-se aos  
147 grupos funcionais hidrofílicos ligados as cadeias dos polímeros precursores, tais  
148 como os grupos  $-NH_2$ ,  $-COOH$ ,  $-OH$ ,  $-CONH_2$ ,  $-OSO_3H$  dentre outros (AHMED,  
149 2015; ULLAH, et al., 2015). Quando intumescidos, a estrutura tridimensional é  
150 baseada em duas fases, tais como a fase líquida (composta por água) e a fase  
151 sólida (constituída de polímeros ou misturas poliméricas) reticulada (BATISTA, et  
152 al., 2019).

153

A formação dos hidrogéis decorre por meio do estabelecimento de ligações  
154 químicas ou interações físicas. Em ligações químicas, as cadeias do hidrogel são  
155 formadas por redes poliméricas organizadas e reticuladas, estando interligadas  
156 umas às outras por meio de ligações covalentes, formando, geralmente estruturas  
157 permanentes, estáveis e insolúveis em água. Os hidrogéis químicos são melhores  
158 mecanicamente, mas também são frágeis e geralmente irreversíveis (BATISTA, et  
159 al., 2019; DA CRUZ, et al., 2020). A formação de hidrogéis por ligações físicas  
160 acontece devido ao estabelecimento de interações eletrostáticas, íon-dipolo e  
161 intermoleculares do tipo van der Waals, ligações de hidrogênio e dipolo-dipolo que  
162 ocorrem entre os segmentos de cadeias poliméricas. No geral, hidrogéis físicos  
163 podem ser denominados de complexos polieletrólíticos (PECs). Esses materiais são  
164 formados pelo estabelecimento de interações eletrostáticas entre grupos de cargas  
165 opostas em solução, como também por interações intramoleculares e  
166 intermoleculares entre polímeros com grupos ionizáveis de cargas opostas em  
167 solução aquosa. Hidrogéis físicos podem ter estruturas permanentes; entretanto,  
168 essa característica é dependente das condições de pH, força iônica, temperatura,  
169 dos precursores empregados na formação do hidrogel, bem como da metodologia  
170 de preparo dos materiais. No entanto, hidrogéis físicos geralmente apresentam  
171 desvantagens como a deformação em partes pseudo plásticas, baixa força  
172 mecânica e estabilidade (OLIVEIRA, et al., 2020; OLIVEIRA, et al., 2019).

173 Os hidrogéis podem apresentar características interessantes tais como,  
174 flexibilidade, permeabilidade, elasticidade, capacidade para intumescer, alta  
175 condutividade iônica, entre outras (ULLAH, et al., 2015). Estas características  
176 permitem a sua aplicação em inúmeras áreas como, por exemplo, em sistemas de  
177 liberação de fármacos (KIM, et al., 2019), na área ambiental (atuam como agentes  
178 adsorventes) (RUFATO, et al., 2019), área biomédica (promovem regeneração e  
179 reparação de tecidos) (CÂMARA, et al., 2019), indústria de alimentos (podem ser  
180 utilizados como filmes para confecção de embalagens (RAMBABU, et al., 2019), e  
181 outras.

182 Nesta vertente, novas formas de produção de embalagens estão sendo  
183 desenvolvidas a partir de materiais biodegradáveis, por meio de recursos  
184 renováveis que não sejam tóxicos ao meio ambiente. Dentre estes materiais, os  
185 polissacarídeos têm tido ênfase como matéria-prima, em virtude de sua abundância  
186 (WU, et al., 2018) e capacidade para formar filmes biodegradáveis (FERREIRA,  
187 ALVES, COELHO, 2016).

188  
189

### 1.3 POLISSACARÍDEOS E EMBALAGENS DE ALIMENTOS

190

191 Os polissacarídeos são polímeros de carboidratos (HARVEY, FERRIER,  
192 2012), sendo encontrados em abundância no planeta Terra (NELSON, COX, 2016,  
193 ORSUWAN, SOTHORNVIT, 2018). Por estarem presentes em inúmeros seres  
194 vivos (SONG, SHANG, RATNER, 2012), podem ser extraídos de organismos, como  
195 animais (quitina), plantas (amido, galactomananas, celulose e pectina), algas  
196 (carragena, alginato), microrganismos (pullulan, goma gelana, goma xantana e  
197 fucopol) (FERREIRA, ALVES, COELHO, 2016) dentre outros. Também  
198 conhecido como glicanos, os polissacarídeos geralmente possuem elevada massa  
199 molar (> 20.000 Da), diferindo-se em relação ao comprimento de suas cadeias,  
200 unidades repetitivas, no tipo de ligação que unem estas unidades, grau de  
201 ramificação e tipo de cadeia lateral (NELSON, COX, 2016).

202 Em termos de cargas os polissacarídeos são classificados em catiônicos,  
203 aniônicos e neutros. Essa classificação depende do tipo de grupo químico lateral  
204 presente na estrutura do polissacarídeo. Grupos químicos, tais como  $-NH_2$ ,  $-OH$ ,  $-$   
205  $COOH$  e  $-CONH_2$  são suscetíveis a modificações químicas, visando alteração de

206 propriedades químicas e físicas das estruturas de polissacarídeos (ROCHA,  
207 SOUZA, PRETINCE, 2018; NESIC, SESLIJA, 2017). Polissacarídeos também  
208 recebem destaque nas indústrias de cosméticos, médico-farmacêutica (como  
209 agentes para curativos e carreadores de fármacos) e têxtil (produção de  
210 embalagens) (NESIC, SESLIJA, 2017).

211 Modificações químicas de polissacarídeos são importantes. Por exemplo, a  
212 desacetilação parcial da quitina na presença de hidróxido de sódio leva à formação  
213 da quitosana. A quitosana possui algumas vantagens interessantes em relação à  
214 quitina, tais como, solubilidade em soluções aquosas de ácidos diluídos,  
215 propriedades antimicrobianas, capacidade de atuar como ligante quelante sobre  
216 íons metálicos e outras (FOLLMANN, et al., 2015; MARTINS, et al., 2014).

217 A existência de uma ampla gama de polissacarídeos possibilita inúmeras  
218 aplicações tecnológicas, em diversas áreas, especialmente no preparo de produtos  
219 alimentícios. Na indústria de alimentos, os polissacarídeos podem ser utilizados  
220 como espessantes (pectina, carragena, amido (NESIC, SESLIJA, 2017), celulose  
221 (LU, et al., 2019), goma gelana (FERREIRA, ALVES, COELHO, 2016), pullulan  
222 (SINGH, KAUR, KENNEDY, 2019) e alginato (QIN, et al., 2018)); estabilizantes  
223 (pectina, alginato) (NESIC, SESLIJA, 2017), carragena (ROCHA, SOUZA,  
224 PRETINCE, 2018), goma gelana (FERREIRA, ALVES, COELHO, 2016), pullulan  
225 (SINGH, KAUR, KENNEDY, 2019) e celulose (LU, et al., 2019)) e emulsificantes  
226 (carragena (FERREIRA, ALVES, COELHO, 2016), celulose (LU, et al., 2019),  
227 pectina (NGOUÉMAZONG, 2015) e goma arábica (OZTURK, McCLEMENTS,  
228 2016)).

229 Embalagens plásticas confeccionadas à base de polissacarídeos podem  
230 contribuir com propriedades importantes para o uso como embalagens alimentícias,  
231 como propriedades antimicrobianas, antifúngicas e impermeabilidade contra gases  
232 O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> e biodegradabilidade (FERREIRA, ALVES, COELHO, 2016; ROCHA,  
233 SOUZA, PRETINCE, 2018; WU et al., 2018). Entretanto, geralmente, a utilização de  
234 polímeros naturais na produção de filmes para embalagens alimentícias,  
235 apresentam desvantagens. Por exemplo, promovem características mecânicas  
236 ruins, pois formam materiais frágeis e quebradiços, bem como também apresentam  
237 elevada permeabilidade à transferência de vapor de água. Além de transpor essas

238 deficiências, é necessário que os filmes alimentícios contenham transparência  
239 óptica e estabilidade térmica (CAZÓN, et al., 2017).

240 Para a preparação de filmes biodegradáveis, inicialmente o polissacarídeo  
241 deve ser dissolvido ou disperso em um solvente apropriado (água, álcool, mistura  
242 de solventes, dentre outros). Normalmente, o aquecimento da solução resultante,  
243 bem como o ajuste do valor de pH do sistema podem facilitar o preparo de soluções  
244 poliméricas contendo plastificantes e agentes antimicrobianos. A solução formadora  
245 de filme é moldada e seca em temperatura e umidade relativa previamente  
246 estabelecidas para obtenção de filmes via método casting (CAZÓN, et al., 2017).

247 Filmes biodegradáveis para embalagens alimentícias contendo agentes  
248 antimicrobianos podem proporcionar aos alimentos maior prazo de validade e  
249 durabilidade. Destacamos o aumento da viabilidade promovida sobre alimentos  
250 perecíveis. Além disso, os agentes antimicrobianos influenciam nas propriedades  
251 dos filmes, tais como, propriedades mecânicas (resistência à tração e elasticidade)  
252 e na permeabilidade a gases e vapor de água (KHANEGHAH, HASHEMI, LIMBO,  
253 2018).

254 Os agentes plastificantes em filmes biodegradáveis geralmente promovem  
255 diminuição das forças intermoleculares existentes entre as cadeias poliméricas,  
256 aumentando a flexibilidade do sistema. O aumento da flexibilidade, diminui a  
257 fragilidade do filme, possibilitando melhor manuseio (VIEIRA, et al., 2011). Além de  
258 modificar o módulo de elasticidade e outras propriedades mecânicas, os  
259 plastificantes alteram a permeabilidade à vapores de água e gases (HAN, 2014).  
260 Dentre os plastificantes utilizados, destacam-se os polióis, como o glicerol  
261 (CIANNAMEA, et al., 2018; PRIYARDASHI, KUMAR, NEGI, 2018; CÁZON,  
262 VÁZQUEZ, VELAZQUEZ, 2018, CÁZON, VÁZQUEZ, VELAZQUEZ, 2019), sorbitol  
263 (FARHAN, NANI, 2017; KUMAR, GHOSHAL, GOYAL, 2019), xilitol (LI, et al., 2018),  
264 e outros.

265 A contribuição dos agentes plastificantes em filmes biodegradáveis pode  
266 ser confirmada no trabalho desenvolvido por Priyadarshi e colaboradores (2018),  
267 em que utilizaram ácido cítrico (reticulante a 2,0% m/v) e glicerol (1,0% m/v) em  
268 soluções de quitosana (2,0% m/v) preparadas em solução de ácido acético (1,0%  
269 v/v). O propósito foi desenvolver embalagens alimentícias para prolongar a vida útil  
270 de pimentas verdes. A presença de glicerol no filme reticulado promoveu uma maior

271 transparência, redução de 5,5% na transmissão de vapor de água e redução de  
272 29% na permeabilidade ao vapor de água. A incorporação do glicerol elevou a  
273 flexibilidade do filme em 12 vezes, mas promoveu redução de 82% na resistência à  
274 tração do material. O filme reticulado com glicerol também apresentou maior  
275 estabilidade térmica e propriedade antioxidante, quando comparado ao filme de  
276 quitosana puro. O filme de quitosana reticulado e incorporado com glicerol  
277 promoveu aumento do tempo de vida útil de pimentas verdes em até 7 dias  
278 (PRIYADARSHI, KUMAR, NEGI, 2018).

279 Outros materiais podem ser incorporados aos filmes para proporcionar  
280 melhores propriedades mecânicas e uma barreira contra transmissão de água (WU,  
281 et al., 2018). Destacam-se extratos naturais a base de cranberry, mirtilo, beterraba,  
282 romã, orégano, pitaya, uvas (LOZANO-NAVARRO, et al., 2017) e manga (ADILAH,  
283 JAMILAH, HANANI, 2018), bem como nanomateriais (nanopartículas metálicas,  
284 nanofibras, nanotubos de carbono, e outros) (KUSWANDI, MORADI, 2019).  
285 Lozano-Navarro e colaboradores (2017) empregaram diversos extratos naturais  
286 (cranberry, mirtilo, beterraba, romã, orégano, pitaya e uvas) em filmes de amido e  
287 quitosana, com o objetivo de promover propriedades antimicrobianas e antifúngicas  
288 ao material final. Os extratos promoveram melhorias na atividade antimicrobiana  
289 contra bactérias *Coliformes* (Gram-negativa) e fungos (*Penicillium notatum*,  
290 *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*) em comparação aos filmes puros (sem  
291 adição de extratos) (LOZANO-NAVARRO, et al., 2017).

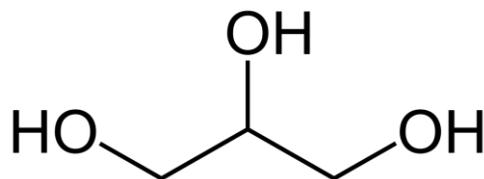
292  
293

#### 1.4 GLICEROL COMO AGENTE PLASTIFICANTE

294

295 O glicerol (GLI) é um composto orgânico (propano-1,2,3-triol) de fórmula  
296 molecular  $C_3H_8O_3$  pertencente ao grupo dos polióis (Fig. 3). Estruturalmente,  
297 consiste em uma cadeia composta por três átomos de carbono com um grupo  
298 hidroxila ligado à cada átomo de carbono (Fig. 3) (DICK, et al., 2015; TAN, AZIZ,  
299 AROUA, 2013). O GLI é um líquido incolor, inodoro, higroscópico, viscoso e  
300 promove baixa citotoxicidade para seres humanos e meio ambiente. Apresenta  
301 ponto de fusão (18 °C), ponto de ebulição (290 °C) e ponto de fulgor (177 °C). Na  
302 temperatura de 25 °C e 1 atm, o GLI (peso molecular de 92,09 g mol<sup>-1</sup>) apresenta  
303 densidade de 1,261 g cm<sup>-3</sup> e viscosidade de 1,5 Pa.s (TAN, AZIZ, AROUA, 2013).

304



305

306

**Figura 3.** Estrutura química do glicerol

307

**Fonte:** Autoria própria.

308

309

310

311

312

313

314

315

316

317

318

319

320

321

322

Por ser citocompatível e biodegradável, o GLI proporciona benefícios importantes, sendo utilizado em mais de duas mil aplicações diferentes. Destacam-se aplicações na área farmacêutica (produção de medicamentos e plastificantes para cápsulas de medicamentos), área cosmética (produtos para pele e cabelo), indústria de alimentos e bebidas (atuando como solvente, adoçante e agente conservante) (TAN, AZIZ, AROUA, 2013). Além destas aplicações, algumas características do GLI, como sua solubilidade em água, baixo peso molecular, estrutura polar e não-volatilidade tornam esta substância apropriada para utilização como plastificante (DICK, et al., 2015). A aplicação do GLI como plastificante tem proporcionado melhorias nas propriedades mecânicas de filmes biodegradáveis constituídos por polissacarídeos, reduzindo a coesão na rede do filme, enfraquecendo as forças intermoleculares entre as cadeias poliméricas e reduzindo a energia necessária para fornecer mobilidade a estrutura do filme (CAZÓN, et al., 2017; GONÇALVES, et al., 2019).

323

324

325

326

327

328

329

330

Os plastificantes são fluidos de baixo peso molecular e baixa volatilidade, que possuem capacidade para realizar interações com as cadeias dos materiais poliméricos na estrutura dos filmes (GONÇALVES et al., 2019). À presença de grupos polares (-OH) na cadeia dos plastificantes promove a substituição das interações polímero-polímero por interações de ligações de hidrogênio entre plastificante-polímero nos filmes (YANG, PAULSON, 2000). Esse efeito pode aumentar a elasticidade do material final, pois o glicerol atua como um agente espaçador de cadeias poliméricas.

331

332

333

334

As interações plastificante-polímero propiciam modificações nas propriedades dos filmes, seja pelo aumento da flexibilidade, elasticidade (PRIYADARSHI, KUMAR, NEGI, 2018), efeito protetor contra radiação ultravioleta (CÁZON, VÁZQUEZ, VELAZQUEZ, 2018), barreira contra permeação de vapores

335 de água e gases (CIANNAMEA, et al., 2018) e melhoria das propriedades  
336 mecânicas e outras (CÁZON, et al., 2017; DOMÍNGUEZ, et al., 2018, SUDERMAN,  
337 et al., 2018). Nesse panorama, a aplicação do GLI em filmes à base de  
338 polissacarídeos, visando o preparo de embalagens alimentícias têm sido  
339 amplamente requisitada em virtude dos benefícios promovidos aos filmes (CAZÓN,  
340 VÁZQUEZ, VELAZQUEZ, 2019).

341 A presença do GLI nos filmes pode modular as propriedades mecânicas do  
342 material. Este efeito decorre devido à molécula de GLI ser pequena quando  
343 comparada às cadeias poliméricas. Assim, este plastificante é capaz de penetrar  
344 entre as cadeias enfraquecendo as interações entre espécies poliméricas  
345 promovendo aumento de flexibilidade (SUDERMAN, ISA, SARBON, 2018). As  
346 propriedades mecânicas são parâmetros importantes na produção de embalagens  
347 para alimentos, pois boa resistência mecânica garante integridade ao material final  
348 durante o transporte, manuseio e armazenamento (CAZÓN, VÁZQUEZ,  
349 VELAZQUEZ, 2018). O desempenho de filmes depende de parâmetros como  
350 resistência à tração, porcentagem de alongamento até a ruptura, natureza dos  
351 componentes presentes na estrutura do filme, metodologia de preparo, condições  
352 de processamento, e outras (CAZÓN, VÁZQUEZ, VELAZQUEZ, 2019). Todos  
353 esses fatores podem ser modulados com base no uso de um agente plastificante.

354 Outras propriedades como a barreira a vapor de água, gases e radiação  
355 ultravioleta são aspectos fundamentais utilizados para determinar o prazo de  
356 validade de um filme quando utilizado em embalagens alimentícias. A radiação  
357 ultravioleta é a principal responsável por oxidar os lipídios presentes em alimentos.  
358 A oxidação promove degradação do alimento, levando à formação de aldeídos e  
359 cetonas de baixo peso molecular que promovem o surgimento de sabores e odores  
360 indesejáveis, diminuindo o tempo de vida útil de alimentos embalados (CAZÓN,  
361 VÁZQUEZ, VELAZQUEZ, 2019).

362 As propriedades ópticas de filmes estão relacionadas ao tipo de plastificante  
363 e a sua concentração no material. Para o GLI, o aumento de sua proporção na  
364 matriz do material acarreta em um aumento da transmissão de luz ultravioleta e luz  
365 visível, pelo fato do GLI geralmente reduzir a compactação da matriz do filme,  
366 propiciando maior transmissão de luz. O GLI aumenta a transparência dos filmes,  
367 modificando o índice de refração do material (SUDERMAN, ISA, SARBON, 2018).

368 Além das propriedades promovidas pelo uso do GLI como agente  
369 plastificante, a escolha dos polissacarídeos que irão compor a estrutura do filme  
370 também deve influenciar nas propriedades dos materiais biodegradáveis obtidos  
371 (ROCHA, et al., 2018). Dentre os polissacarídeos utilizados junto ao GLI em  
372 embalagens para alimentos, destacam-se o alginato (AZIZ, et al., 2018), *kappa*-  
373 carragena (FARHAN, HANI, 2017), celulose (CAZÓN, VÁZQUEZ, VELAZQUEZ,  
374 2018; CAZÓN, VÁZQUEZ, VELAZQUEZ, 2019), quitosana (LAVORGNA, et al.,  
375 2010, LOZANNO-NAVARRO, et al., 2016, PRIYARDASHI, KUMAR, NEGI, 2018,  
376 RIAZ, et al., 2018) e pectina (BIERHALZ, SILVA, KIECKBUSCH, 2012; SARTORI,  
377 et al., 2018).

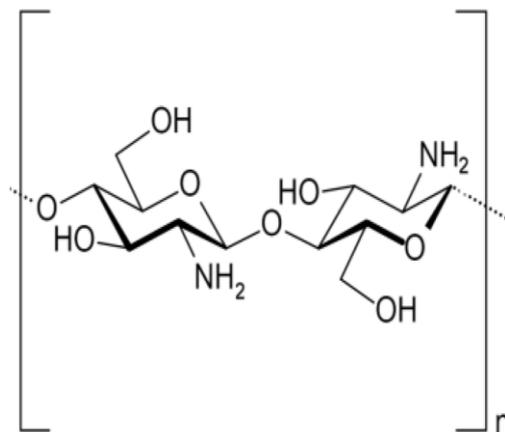
378  
379

#### 1.5 QUITOSANA E PECTINA: PRODUÇÃO DE FILMES

380

381 A quitosana (QT) é um polissacarídeo produzido principalmente por meio  
382 da reação de desacetilação alcalina da quitina (o segundo polissacarídeo mais  
383 abundante da natureza), por meio da remoção de proteínas, hidrolisando os grupos  
384 *N*-acetil randomicamente (TENTOR, et al., 2017; RAMBABU, et al., 2019). A quitina  
385 é extraída do exoesqueleto de artrópodes (moluscos, crustáceos), esqueletos de  
386 insetos e paredes celulares de fungos e leveduras (FERREIRA, et al., 2016;  
387 ROCHA, SOUZA, PRENTICE, 2018). A QT é classificada como um polissacarídeo  
388 linear, de estrutura catiônica, composto por unidades *D*-glucosamina e *N*-acetil-*D*-  
389 glucosamina interligadas por ligações glicosídicas  $\beta(1\rightarrow4)$  (Fig. 4) (RIAZ, et al.,  
390 2018).

391



**Figura 4.** Estrutura química da quitosana (unidades desacetiladas).

**Fonte:** Autoria própria.

392  
393

394

395

396

397

398

399

400

401

402

403

404

405

406

407

408

409

410

411

412

413

414

415

416

417

A QT apresenta inúmeras propriedades, como por exemplo, baixa toxicidade, biodegradabilidade, citocompatibilidade, propriedades antimicrobianas, antioxidante e permeabilidade aos gases  $O_2$  e  $CO_2$  (CAZÓN, et al., 2017; ANSORENA, et al., 2017; ROCHA, SOUZA, PRENTICE, 2018). Essas propriedades oferecem proteção contra contaminantes e deterioração microbiana, prolongando a validade e qualidade dos alimentos (MARTÍNEZ-CAMACHO, et al., 2010). Portanto, a QT possui propriedades atrativas que a torna propícia para aplicação em embalagem para alimentos (PRIYADARSHI, KUMAR, NEGI, 2018).

Apesar de suas propriedades únicas e numerosas vantagens, os filmes de QT exibem propriedades mecânicas inadequadas para produção de embalagens. Além disso, são altamente permeáveis ao vapor de água, (ANSORENA, et al., 2017). Essas propriedades prejudicam sua aplicação em embalagens alimentícias, pois um controle efetivo de umidade é uma propriedade essencial para preservação (CAZÓN, et al., 2017; ROCHA, SOUZA, PRENTICE, 2018; SONI, et al., 2018). Nesse contexto, a QT deve ser associada a outros materiais para transpor essas limitações (FERREIRA, ALVES, COELHO, 2016; CAZÓN, et al., 2017).

Outro polissacarídeo que tem recebido destaque na produção de filmes é a pectina (PT). A PT é um polissacarídeo aniônico, de estrutura complexa, composta por unidades lineares de ácido D-galacturônico (65%) interligados por ligações glicosídicas  $\alpha(1\rightarrow4)$  parcialmente O-metoxiladas (Fig. 5) (MARTINS, et al., 2018a; TENTOR, et al., 2017). As cadeias lineares do ácido D-galacturônico apresentam grupos laterais complexos, classificados em homogalacturonano (HG),



439 QT (sem uso de plastificante) promoveu formação de filmes estáveis e resistentes  
440 (MARTINS, et al., 2018a). Para isso, Martins e colaboradores (2018a)  
441 desenvolveram filmes de PT e QT por meio de interações eletrostáticas (complexos  
442 polieletrólíticos), alterando as proporções dos polissacarídeos precursores na matriz  
443 do material. Martins e colaboradores (2018a) obtiveram altos rendimentos de  
444 complexação (até 93%), demonstrando que o excesso de PT (67%) propiciou  
445 melhores resultados quanto à durabilidade, citocompatibilidade, resistência à tração  
446 (27 MPa) e ainda capacidade para promover adesão, proliferação e espalhamento  
447 de células tronco do tecido adiposo em sua superfície (MARTINS, et al., 2018a). No  
448 entanto, os filmes obtidos apresentaram baixa elasticidade ( $\varepsilon < 2\%$ ).

449  
450

## 1.6 MATERIAIS FÍSICOS DE PECTINA/QUITOSANA E APLICAÇÕES

451

452 Hidrogéis físicos são comumente denominados de (PECs), sendo obtidos  
453 por meio de interações iônicas e intermoleculares entre pares de polímeros (um  
454 polication e um poliânion) em solução aquosa. As interações eletrostáticas ocorrem  
455 entre grupos de cargas opostas em meio aquoso (MARTINS, et al., 2018b).  
456 Condições de pH, temperatura, densidade de carga, força iônica, tipo de polímero  
457 usado para o preparo de PECs e outras condições influenciam nas propriedades  
458 dos materiais físicos. Busca-se obter PECs estáveis e duráveis que possam ser  
459 aplicados como agentes adsorventes (RUFATO, et al., 2019), sistemas carreadores  
460 de fármacos (BUENO, et al., 2015), agentes cicatrizantes com aplicação na área de  
461 engenharia de tecidos (MARTINS, et al., 2018b) e outras. Nesta faceta, destacam-  
462 se os PECs obtidos por meio da associação de soluções aquosas de PT e QT  
463 (MARTINS, et al., 2018a; MARTINS, et al., 2018b; MACIEL, YOSHIDA, FRANCO,  
464 2015).

465 As interações decorrentes para formação de PECs a base de PT/QT estão  
466 relacionadas às interações eletrostáticas entre os grupos amino ionizados da  
467 quitosana ( $-\text{NH}_3^+$ ) e os grupos de ácido carboxílico ionizados na pectina ( $-\text{COO}^-$ ).  
468 Além disso, a presença de grupos funcionais polares (tais como  $-\text{OH}$ ) em ambos  
469 polissacarídeos torna possível o estabelecimento de interações intermoleculares de  
470 ligação de hidrogênio entre os polímeros (LUO, WANG, 2014; MACIEL, YOSHIDA,  
471 FRANCO, 2015).

472 Há relatos da produção de filmes e membranas à base de PT e QT  
473 (YOUNIS, ZHAO, 2019; KOWALONEK, 2017; TSAI, et al., 2014). Na maioria dos  
474 casos, os filmes foram preparados com excesso de QT na composição final do  
475 material, partindo-se de PT com baixo grau de O-metoxilação. As membranas e  
476 filmes obtidos não apresentaram propriedades mecânicas adequadas (2,0 MPa de  
477 resistência à tração) (TSAI, et al., 2014) e, normalmente foram dissolvidos  
478 rapidamente quando inseridos em água (CHEN, et al., 2010). A elevada efetividade  
479 das interações eletrostáticas entre as cadeias de QT e PT promove materiais  
480 quebradiços. Dois artigos publicados recentemente pelo nosso grupo de pesquisa,  
481 evidenciaram que filmes de PT e QT preparados com excesso de pectina (com grau  
482 de O-metoxilação elevado, 56%) podem apresentar resistência à tração de até 39  
483 MPa (MARTINS, et al., 2018a). O elevado grau de O-metoxilação diminui a  
484 efetividade das interações eletrostáticas na estrutura do filme, aumentando a  
485 resistência. Além disso, esse efeito aumentou a durabilidade dos filmes contra  
486 processos de dissolução, uma vez que a pectina com elevado grau de O-  
487 metoxilação possui menor solubilidade aquosa em relação à pectina de baixo grau  
488 de O-metoxilação.

489 Não há estudos prévios descrevendo a utilização de embalagens  
490 biodegradáveis para alimentos constituídas por filmes de PT e QT incorporadas com  
491 o agente plastificante GLI. Tripathi e colaboradores (2010) prepararam filmes de  
492 pectina/quitosana/álcool polivinílico para aplicação em embalagens de alimentos.  
493 Os autores não reportaram sobre as propriedades mecânicas dos filmes; porém,  
494 testes antimicrobianos indicaram ação dos filmes contra *Escherichia coli*,  
495 *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* e o fungo *Candida albicans*. Esses  
496 resultados indicam que esses filmes possuem potencial para serem utilizados como  
497 embalagens para alimentos (TRIPATHI, MEHROTRA, DUTRA, 2010). No entanto,  
498 a desvantagem é o alto valor comercial do polímero sintético álcool polivinílico.

499 Assim, esse estudo busca associar o GLI em filmes de PT e QT já obtidos  
500 por nosso grupo de pesquisa, visando o preparo de filmes estáveis, flexíveis e  
501 resistentes, para garantir a integridade dos alimentos e sua utilização como  
502 embalagens alimentícias. Os filmes foram formados mantendo a concentração de  
503 PT e QT (razão massa/massa de PT/QT = 67/23) fixas e alterando a concentração

504 de GLI no filme. Pela primeira vez, filmes de PT/QT/GLI serão preparados e  
505 utilizados como embalagens biodegradáveis para alimentos.

506  
507

## 2 OBJETIVOS

508  
509

### 2.1 OBJETIVO GERAL

510

511 Obter hidrogéis físicos na forma de filmes a partir de polissacarídeos naturais  
512 (pectina/quitosana) incorporados com o agente plastificante.

513  
514

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

515

516 • Caracterizar os materiais por meio de microscopia eletrônica de varredura (SEM),  
517 análise térmica (TGA/DTG), espectroscopia de fotoelétrons de raios-X (XPS),  
518 medidas de propriedades mecânicas (resistência à tração e módulo de elasticidade)  
519 e medidas de ângulo de contato.

520 • Avaliar a capacidade antimicrobiana dos filmes;

521 • Avaliar a citotoxicidade dos filmes;

522 • Realizar estudos de propriedades de barreira a vapor de água, gás oxigênio e a  
523 luz UV-Vis;

524 • Propor uma nova embalagem plástica;

525

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

526

527

#### 3.1 MATERIAIS

528

529 A pectina (PT) GENU® de massa molar de  $190 \times 10^3 \text{ g mol}^{-1}$  com grau de  
530 O-metoxilação de 56% foi extraída da casca de laranja e gentilmente doada pela  
531 empresa CP Kelco Brasil (Limeira – SP, Brasil). Quitosana (QT) com massa molar  
532 de  $87 \times 10^3 \text{ g mol}^{-1}$  e grau de desacetilação 85% foi adquirida da Golden-Shell  
533 Biochemical (China). Glicerol (99%, GLI) foi obtido da Sigma-Aldrich (Brasil).

534

535

#### 3.2 PREPARO DOS FILMES

536

537 Soluções de PT e QT (1,0% m/v) foram preparadas separadamente em  
538 solução aquosa de HCl ( $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ ) por 10 min a  $60 \text{ }^\circ\text{C}$ . Blendas de PT/QT/GLI  
539 foram obtidas a  $60 \text{ }^\circ\text{C}$  pela adição de alíquotas de GLI em uma mistura de PT/QT  
540 (30 mL), mantendo a concentração de PT em 67% (v/v) na blenda PT/QT. Após  
541 adição do GLI, o sistema foi mantido em agitação por mais 5 min. O teor de GLI (%  
542 massa) foi calculado considerando a massa total (0,30 g) de polissacarídeos em 30  
543 mL de blenda PT/QT (Tabela 1).

544

545

**Tabela 1. Condições experimentais utilizadas no preparo dos filmes.**

Filmes*	Solução de Pectina (mL)**	GLI (% m)
FA5 e FD5	20	5,0
FA10 e FD10	20	10
FA15 e FD15	20	15
FA20 e FD20	20	20
FA25 e FD25	20	25
FA30 e FD30	20	30
FA35 e FD35	20	35
FA40 e FD40	20	40

546

\*FA = filme não lavado; FD = filme lavado.

547

\*\*Volume da solução de pectina (1,0 m/v) usado para preparar a blenda pectina/quitosana.

548

549 Após 5 min, as blendas PT/QT/GLI (60 °C) foram adicionadas em placa de  
550 Petri (placa esférica com dimensão de 85 × 10 mm) e alocadas em estufa a 35 °C  
551 por 24 h. Posteriormente, os filmes produzidos foram removidos das placas de Petri  
552 e adicionados em água deionizada (200 mL) a 25 °C para promover a lavagem dos  
553 mesmos. Os filmes lavados foram rotulados nesse estudo como FDX, onde X indica  
554 o teor de GLI (%) na blenda PT/QT (Tabela 1). O processo de lavagem decorreu  
555 por um período de 8 h, realizando a troca da água deionizada (200 mL) a cada 1 h,  
556 até que o pH da água de lavagem estivesse na faixa de 5,0 a 5,5. Após lavagem,  
557 os filmes foram secos em estufa por 24 h a 35 °C. Filmes não lavados também foram  
558 obtidos, sendo esses rotulados como FAX (X = teor (%) de GLI na blenda PT/QT  
559 (Tabela 1).

560  
561

### 3.3 CARACTERIZAÇÃO

562  
563

#### 3.3.1 Medidas das Propriedades Mecânicas

564

565 Para determinar as espessuras dos filmes (amostras com dimensões de 50  
566 × 25 mm) foi utilizado um micrômetro digital (modelo ZAAS). A obtenção do  
567 resultado médio da espessura foi realizada por meio de cinco medições na área  
568 total de cada amostra (50 × 25 mm). Para analisar as propriedades mecânicas, em  
569 específico, a resistência à tração ( $\sigma$ ), o alongamento ( $\epsilon\%$ ) até a ruptura do filme,  
570 bem como obter curvas de  $\sigma$  em função de  $\epsilon\%$ , foi utilizado um texturômetro  
571 MicroSystems, modelo TATX2i Surrey (Inglaterra). As medidas foram realizadas  
572 conforme o método ASTM-D882-02 (ASTM, 2002). Para isso, as amostras (50 × 25  
573 mm), a princípio, foram alocadas em uma solução saturada de  $Mg(NO_3)_2$  a  $25 \pm 2^\circ C$   
574 por 48 h e umidade relativa de  $53 \pm 2\%$ . A velocidade de realização do teste foi  
575 regulada para  $0,83 \text{ mm s}^{-1}$  (célula de carga de 50 kg) com distância inicial de 30  
576 mm entre as alças. O estabelecimento dos parâmetros  $\sigma$  (MPa) e  $\epsilon$  (%) decorreram  
577 por meio de cinco repetições. As medidas das propriedades mecânicas foram  
578 realizadas na Universidade Estadual de Londrina (UEL).

579  
580

#### 3.3.2 Espectroscopia de Fotoelétrons Excitados por Raio-X

581

582 A análise química da superfície dos filmes de PEC/QT/GLI foi conduzida por  
583 um Espectrômetro Eletrônico PHI-5800 (Chanhassen, MN). A obtenção dos  
584 espectros decorreu por uma fonte de raios X monocromática Al de radiação  $K\alpha$  ( $h\nu$   
585 = 1486,6 eV) juntamente com um analisador hemisférico e um detector multicanal.  
586 Os espectros de alta resolução foram obtidos com um analisador, operando sob as  
587 seguintes condições: energia de passagem de 23,5 eV, passos de 0,1 eV, ponto de  
588 raio-X de 800  $\mu\text{m}$  e ângulo de retirada de fotoelétrons ajustado para  $45^\circ$ . As curvas  
589 espectrais foram ajustadas por meio do programa Origin 8.5. A altura de cada pico  
590 foi ajustada, preservando respectivamente a sua posição, a sua metade máxima de  
591 largura (fwhm) e porcentagem de função Gaussiana fixos (ROMERO, et al., 2015).  
592 Essa análise foi realizada na Colorado State University (CSU, USA).

593  
594

### 3.3.3 Medidas de Ângulo de Contato

595

596 Medidas do ângulo de contato das superfícies dos filmes foram  
597 determinadas por meio do método da gota séssil, utilizando um goniômetro de  
598 ângulo de contato Krüss DAS 10 (Hamburgo, Alemanha) equipado com captura de  
599 vídeo. Para isso, uma gota de água foi depositada na superfície dos filmes e  
600 imagens capturadas em intervalos de zero e 10 min após o contato da gotícula de  
601 água com a superfície. Os valores de ângulo de contato foram monitorados em um  
602 intervalo de 10 min por meio de um software de imagem DAS 10. Em cada  
603 superfície, foram realizadas três medidas de ângulo de contato em regiões distintas.  
604 Essa análise foi realizada na Colorado State University (CSU, USA).

605  
606

### 3.3.4 Análise Termogravimétrica

607

608 Análise termogravimétrica (TGA) foi realizada por meio de um analisador  
609 termogravimétrico Shimadzu TGA-50 (Japão). O TGA foi operado nas seguintes  
610 condições: taxa de aquecimento de  $10\text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ , fluxo de argônio de  $50\text{ mL min}^{-1}$  e  
611 faixa de temperatura de 25 a  $600\text{ }^\circ\text{C}$ .

612

613

614

### 3.3.5. Microscopia Eletrônica de Varredura

615

616 A morfologia dos filmes foi investigada por meio da técnica de microscopia  
617 eletrônica de varredura (SEM), utilizando um microscópio eletrônico de varredura  
618 JSM-6500F, JEOL (Japão) operando a 5 kV. Inicialmente, as amostras foram  
619 revestidas com uma fina camada de ouro-paládio a uma espessura de 10 nm (10 –  
620 15 mA, sob vácuo de 130m Torr) para propiciar a visualização das imagens SEM.  
621 Essa análise foi realizada na Colorado State University (CSU, USA).

622

623

### 3.4 ENSAIO DE CITOTOXICIDADE

624

625 Células tronco do tecido adiposo humano (células ADSC) foram cultivadas  
626 em meio Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) com 10% de soro fetal bovino  
627 e 1,0% de penicilina/estreptomicina a 37 °C e 5% de CO<sub>2</sub>. Antes de semear as  
628 células de passagem dois, discos de 8,0 mm de cada filme foi fixado com fitas de  
629 carbono sobre discos de Teflon (8,0 mm). Em seguida, essas amostras foram  
630 esterilizadas com óxido de etileno através de um processo de alquilação a 40 °C  
631 durante 120 min. Esse processo foi realizado por G&S esterilização e produtos de  
632 saúde (Maringá, Brasil) (TENTOR, et al., 2017). A citotoxicidade dos filmes sobre  
633 células ADSC foi determinada utilizando um kit de ensaio de citotoxicidade de  
634 lactato desidrogenase (LDH) disponível comercialmente.

635

636 O kit de citotoxicidade LDH (Thermo Scientific, USA) é um método  
637 colorimétrico utilizado para quantificar a citotoxicidade. A LDH é uma enzima  
638 citosólica presente em diferentes tipos de células. A LDH extracelular no meio pode  
639 ser quantificada por meio da ocorrência de uma reação enzimática acoplada. A LDH  
640 catalisa a conversão de lactato em piruvato via redução de NAD<sup>+</sup> em NADH. O  
641 NADH participa diretamente na redução do sal de tetrazólio (INT) em vermelho de  
642 formazan. O vermelho de formazan pode ser quantificado por medidas de UV-Vis  
643 em 490 nm. A concentração do vermelho de formazan é diretamente proporcional  
644 à concentração de LDH liberada no meio (atividade de LDH). A presença de LDH é  
645 um indicativo de citotoxicidade.

645

646 As células ADSC (15000 células/poço) foram cultivadas em placas de 48  
647 poços na presença dos filmes, poliestireno (PS, filme de 8,0 mm, controle negativo),

647 e Triton X (controle positivo, solução 1,0 vol. %). Após 24 h de incubação, a atividade  
648 de LDH liberada no meio de cultura foi determinada pela transferência de 100 µL do  
649 meio para uma nova placa de 96 poços. Então, procedeu-se a adição de 100 µL da  
650 mistura de reação (96% vol/vol da solução tampão do kit LDH, 1,0% vol/vol NAD<sup>+</sup>,  
651 1,0%, vol/vol de ácido láctico, 1,0 % vol/vol do sal INT e 1,0% vol/vol LDH diaforase)  
652 ao meio de cultura (100 µL) para quantificar a LDH liberada das células ADSC  
653 devido à ação citotóxica das amostras. Após 30 min de incubação (temperatura  
654 ambiente), a absorbância da mistura (200 µL) foi medida (490 nm) em um  
655 espectrofotômetro de placas para determinar a atividade de LDH (PIERCE LDH  
656 CYTOTOXICITY ASSAY KIT 88953). A citotoxicidade (%) das amostras foi  
657 calculada por meio da Equação 1.

658

$$659 \quad \text{Citotoxicidade (\%)} = (\text{LDHa} - \text{LDHe}) / (\text{LDHt} - \text{LDHe}) \times 100 \quad (\text{Eq. 1})$$

660

661 onde, LDHa = atividade de LDH promovida pelos filmes, LDHe = atividade de LDH  
662 espontânea que ocorre na presença de PS, LDHt = atividade de LDH máxima  
663 promovida pelo controle Triton X na concentração 1,0 vol%. Essa análise foi  
664 realizada na Colorado State University (CSU, USA) com  $n = 5$ .

665

666

### 3.5 ENSAIO ANTIMICROBIANO

667

668

#### 3.5.1 Microrganismo Utilizado e Condições de Crescimento

669

670 Os ensaios antimicrobianos foram realizados utilizando cultivos recentes  
671 dos isolados de *Escherichia coli* (Gram negativa - ATCC 25922) em caldo BHI (Brain  
672 Heart Infusion), obtidos após incubação (24 h) a 37 °C. Para realização dos testes,  
673 a densidade celular foi padronizada em tubos esterilizados contendo solução salina  
674 (0,85% m/v), até a concentração predita de 0,5 na escala de McFarland  
675 (concentração de  $1,0 \times 10^8$  UFC ml<sup>-1</sup>). Antes dos ensaios, as amostras foram  
676 esterilizadas como relatado na Seção anterior.

677

678

679

### 3.5.2 Ensaio Antimicrobiano via Método Disco-Difusão

680

681 O ensaio foi realizado de acordo com as normas de CLSI (Clinical and  
682 Laboratory Standards Institute) (CLSI, 2012). O meio de cultura utilizado foi o agar  
683 Müeller-Hinton (MHA, pH 7,4) (Sigma Aldrich). A suspensão de *E. coli* foi semeada  
684 com a ajuda de “swabs” esterilizados sobre a superfície de placas de Petri (placa  
685 esférica com dimensão de 85 × 10 mm) contendo o meio de cultura. Sobre a  
686 superfície do meio inoculado, foram depositados discos (6,0 mm) dos filmes ( $n = 3$ )  
687 em triplicata. Todas as placas foram incubadas por 24 h a 37 °C.

688

689

### 3.5.3 Ensaio de Adesão e Proliferação de *E. coli*

690

691 Os ensaios foram realizados conforme descrito por Martins e colaboradores  
692 (MARTINS et al., 2020) com modificações. Suspensão (500 µL) de *E. Coli* (ATCC  
693 25922) na concentração de  $1,0 \times 10^8$  UFC ml<sup>-1</sup> cultivada em MHA (37 °C por 24 h)  
694 foi adicionado sobre discos (6,0 mm) dos filmes fixados em discos de poliestireno  
695 (6,0 mm) com auxílio de fitas de carbono em uma placa de 48 poços. Após 24 h de  
696 contato, as amostras foram removidas da placa de 48 poços e fixadas para análise  
697 em microscopia eletrônica de varredura (SEM JSM-6500F), como relatado na Seção  
698 3.3.2. As amostras foram fixadas com uma solução de glutaraldeído a 3% (Sigma)  
699 contendo cacodilato de sódio 0,10 mol L<sup>-1</sup> (Sigma) e sacarose 0,10 mol.L<sup>-1</sup>) por 45  
700 min em temperatura ambiente. Após, as amostras foram lavadas com água  
701 deionizada, esterilizadas, congeladas e liofilizadas. Imagens SEM das superfícies  
702 dos filmes foram obtidas a 5 kV para análise da morfologia celular da *E. coli* aderida  
703 sobre os filmes. Foram consideradas três amostras ( $n = 3$ ) para cada filme. Ensaio  
704 com discos de poliestireno foram usados como controle.

705

706

707

708

709 3.6 PROPRIEDADES DE BARREIRA

710  
711 3.6.1 Permeabilidade

712  
713 Para a análise de taxa de permeabilidade ao vapor de água (TPVA) e taxa  
714 de permeabilidade ao oxigênio (TPO<sub>2</sub>) foram determinadas com os filmes FA40 e  
715 FD15 (amostras cortadas em dimensões 5,0 × 5,0 cm). A TPVA foi medida em um  
716 equipamento PERMATRAN, modelo W3/31, fabricado pela MOCON e pertencente  
717 a Amcor Flexibles Latin America. A análise foi realizada segundo a norma *ASTM*  
718 *F1249-90 (Standard Test Methods for Water Vapor Transmission Rate Through*  
719 *Plastic Film and Sheeting Using a Modulated Infrared Sensor)* (ASTM F1249-90,  
720 2001). Este ensaio foi realizado a 23 °C e 90% de umidade relativa, com padrão de  
721 calibração de 5,21 g(m<sup>2</sup>/dia). A TPVA das amostras foi corrigida para condição de  
722 37 °C e 90% de umidade relativa.

723 A TPO<sub>2</sub> foi medida em um equipamento Oxtran da MOCON Inc. pertencente  
724 a Amcor Flexibles Latin America. Este aparelho é acoplado um sensor coulométrico  
725 para detectar a transmissão de oxigênio através dos filmes. A TPO<sub>2</sub> foi determinada  
726 de acordo com o método descrito na norma *ASTM D3985-02 (Standard Test*  
727 *Methods for Oxygen Gas Transmission Rate Through Plastic Film and Sheeting*  
728 *Using a Coulometric Sensor)* (ASTM D3985-02, 2001). O ensaio foi realizado a 23  
729 °C e 0% de umidade relativa para o oxigênio e para o gás de arraste.

730 3.6.2 Propriedade de Barreira a Luz

731  
732 Os filmes FA15, FA40, FD15 e FD40 (1,0 × 1,0 cm) foram submetidos a  
733 análise de propriedade de barreira a luz na região de 190 a 2500 nm. O teste foi  
734 realizado em um espectrofotômetro (Perkin Elmer, Lambda 750) no modo  
735 absorvância. Os valores de porcentagem de transparência a 600 nm foram  
736 utilizados para calcular a transparência dos filmes por meio da Equação 2.

737  
738 
$$\text{Transparência} = \log \% T_{600} / X \quad (\text{Eq. 2})$$

739

740 onde %T<sub>600</sub> indica a porcentagem de transmitância a 600 nm e X a  
741 espessura do filme (mm). Este teste foi realizado em duplicata.

742  
743

### 3.7 APLICAÇÃO COMO EMBALAGEM PARA ALIMENTOS

744

745 Um filme (15 × 8 cm) da amostra FA40 foi usado como embalagem para  
746 tomates-cerejas. Um teste controle também foi realizado com o policroto de vinila  
747 (PVC). O PVC se trate de um filme comercial usado como embalagem de tomates.  
748 Antes de embalar os tomates com os filmes FA40 e PVC, os mesmos foram lavados,  
749 secos e cortados ao meio. Os ensaios foram realizados em duas temperaturas (25  
750 e 4 °C). Os tomates foram mantidos em embalagens a base dos filmes FA40 e PVC  
751 por um período de 18 dias. Imagens digitais dos sistemas foram obtidas a cada 24  
752 h.

753  
754

### 3.8 ESTATÍSTICA

755

756 Os resultados foram analisados estatisticamente por meio de ANOVA e  
757 teste Tukey, utilizando o Software Prism 6.0 (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA,  
758 USA) a um nível de significância de 5%.

759

760

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

761

762

### 4.1 PROPRIEDADES MECÂNICAS

763

764

765

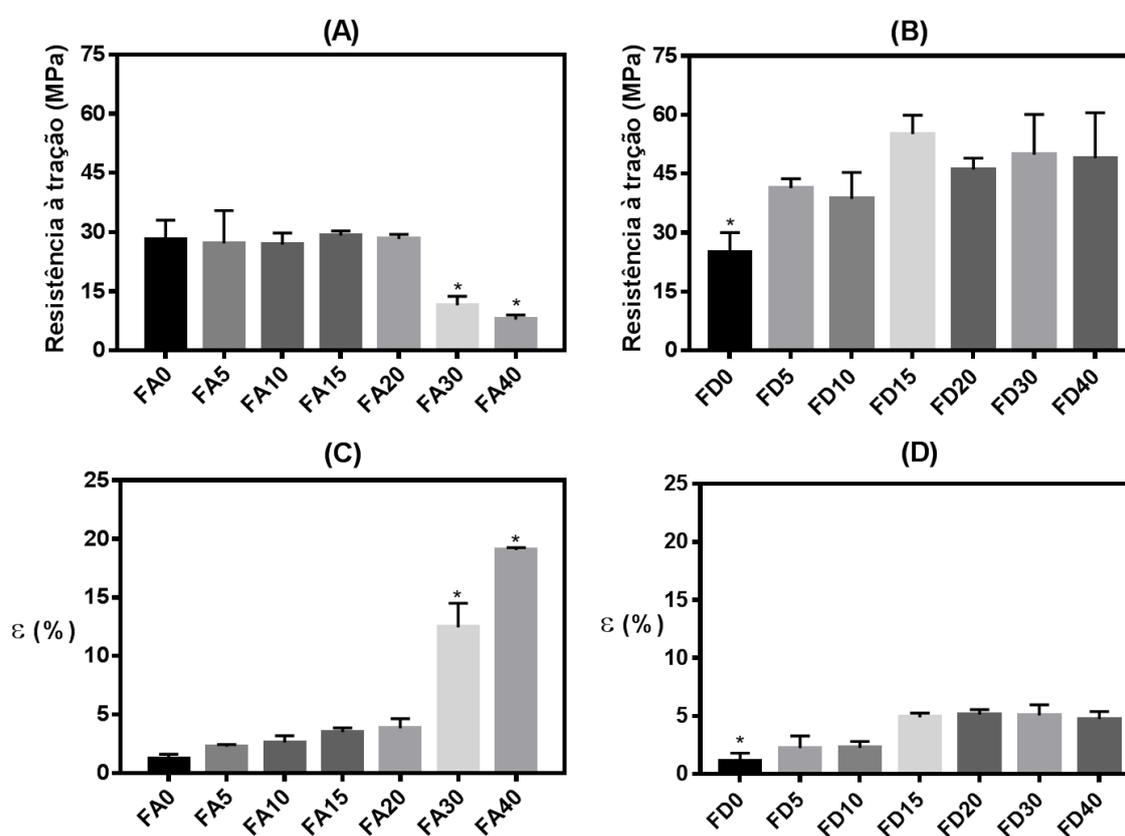
766

767

768

769

A resistência à tração consiste na tensão máxima suportada pelo filme antes de seu rompimento (CAZÓN, et al., 2017), enquanto, o alongamento até a ruptura reflete o grau de flexibilidade do material antes de sua ruptura (GONÇALVES, et al., 2019). As Figs. 6 e 7 apresentam os resultados dos valores médios de resistência à tração ( $\sigma$ ) e alongamento até a ruptura ( $\epsilon\%$ ), bem como curvas de tensão versus deformação de uma replicata de cada filme.



770

771

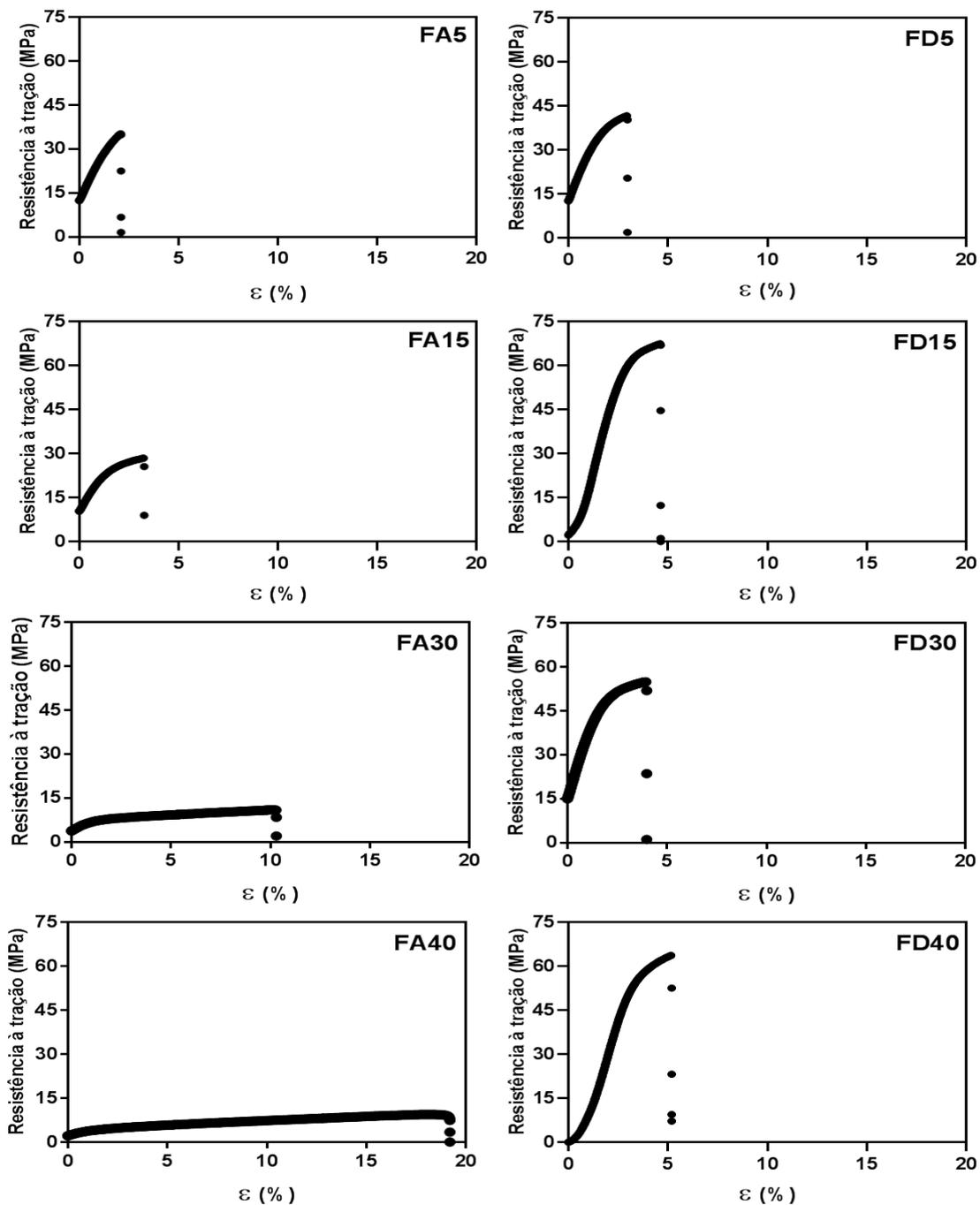
772

773

**Figura 6.** Medidas de resistência à tração (Figs. 6A e 6B) e resultados de  $\epsilon\%$  (Figs. 6C e 6D) dos filmes não lavados e lavados na presença de GLI (5 a 40%). Diferenças significativas estão indicadas (\* indica  $p \leq 0,05$ ).

774

775



776

777

778

**Figura 7.** Curvas de tensão versus deformação dos filmes PT/QT obtidos com diferentes conteúdos de GLI.

779

780

781

782

783

784

Como esperado, a mudança do teor de GLI nas blendas alterou significativamente os valores de resistência à tração ( $\sigma$ ) dos filmes. Após o processo de lavagem, os valores médios de resistência à tração aumentaram de 27 MPa (FA5) para 41 MPa (FD5), 26 MPa (FA10) para 38 MPa (FD10), 29 MPa (FA15) para 55 MPa (FD15), 28 MPa (FA20) para 43 MPa (FD20), 11 MPa (FA30) para 50

785 MPa (FD30) e 8 MPa (FA40) para 49 (MPa). No entanto, o aumento do teor de GLI  
786 (faixa de 5 a 20%) não alterou significativamente a resistência à tração dos filmes  
787 não lavados. Possivelmente, esse efeito pode estar relacionado ao baixo teor de  
788 GLI em relação a massa de polissacarídeos. Entretanto, nos filmes com 30 e 40%  
789 de GLI, houve uma redução significativa da resistência à tração ( $p \leq 0,05$ ). Nessas  
790 concentrações o GLI atuou como um agente plastificante na matriz dos filmes.

791 Após lavagem houve um aumento significativo da resistência à tração nas  
792 amostras com teor de GLI a partir de 5% ( $p \leq 0,05$ ). A lavagem dos filmes deve  
793 promover remoção parcial do GLI das matrizes dos filmes. Portanto, o GLI não atuou  
794 como um agente plastificante após a lavagem das amostras. Esse efeito resultou  
795 em filmes com maior resistência à tração quando comparados aos filmes não  
796 lavados. A remoção parcial do GLI das matrizes dos filmes pode ser justificada pela  
797 maior resistência à tração dos filmes contendo GLI em relação ao filme puro sem  
798 GLI (Fig. 6B). Então, após lavagem, provavelmente o conteúdo de GLI  
799 remanescente na matriz dos filmes intensifica a ocorrência de interações,  
800 aumentando a resistência à tração. De fato, deve ocorrer reorganização estrutural  
801 das cadeias poliméricas após lavagem. Esse efeito ainda será melhor investigado.  
802 Com base nos resultados de resistência à tração dos filmes lavados, parece que o  
803 GLI remanescente ajudou a estabilizar os segmentos de cadeia de PT e QT,  
804 aumentando a efetividade de interação no sistema. A caracterização dos filmes por  
805 meio de medidas de ângulo de contato, XPS e TGA ajudará a entender o que de  
806 fato ocorre com as matrizes dos filmes após o processo de lavagem.

807 O alongamento até a ruptura ( $\epsilon\%$ ) reflete o grau de flexibilidade do material  
808 antes de sua ruptura (GONÇALVES, et al., 2019). Os valores médios de  $\epsilon\%$  estão  
809 apresentados nas Figs. 6C e 6D. Esses resultados estão em acordo com os  
810 resultados de resistência à tração. Ou seja, a inserção de GLI aumentou levemente  
811 os valores de  $\epsilon\%$  dos filmes FA quando comparado ao filme obtido sem GLI  
812 (amostra FA0, Fig. 6C). Todavia, a partir da incorporação de 30 e 40% de GLI, houve  
813 uma elevação significativa nos valores de  $\epsilon\%$ , sendo 12% para o filme FA30 e 19%  
814 para o filme FA40 ( $p \leq 0,05$ ). Nos filmes não lavados, conteúdos de GLI de 30 e  
815 40% promovem enfraquecimento das interações entre as macromoléculas PT e QT,  
816 aumentando o alongamento na ruptura e diminuindo a resistência à tração das  
817 amostras (efeito do plastificante) (PRIYADARSHI, KUMAR, NEGI, 2018).

818           Esse efeito também é observado nos filmes FD; porém não houve diferença  
819 significativa nos valores médios de  $\varepsilon\%$  das amostras contendo GLI, mesmo em  
820 concentrações baixas (5%). Esse efeito deve estar relacionado a parcial remoção  
821 do GLI das matrizes dos filmes. Os valores de  $\varepsilon\%$  dos filmes contendo GLI foram  
822 significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ) apenas em relação à amostra sem GLI (filme  
823 FD0).

824           Os resultados das propriedades mecânicas deste trabalho foram melhores  
825 em comparação a outros materiais. Filmes constituído de PT de maçã, QT, ácido  
826 cítrico, GLI e tween 80 foram obtidos, usando ácido cítrico como agente reticulante  
827 (YOUNIS, ZHAO, 2019). Filmes com resistência à tração entre 22 e 44 MPa com  
828 alongamento até a ruptura de 1,0 a 6,5% foram obtidos e aplicados como  
829 embalagens para alimentos (YOUNIS, ZHAO, 2019). Nesse estudo, os filmes  
830 apresentaram valores médios de resistência à tração na faixa de 8 a 55 MPa e  
831 alongamento até a ruptura na faixa de 2,0 a 19%. Além disso, é digno de destaque  
832 nesse estudo, que não houve a incorporação de agentes tensoativos e agentes  
833 reticulantes tóxicos nas matrizes dos filmes PT/QT incorporados com GLI.

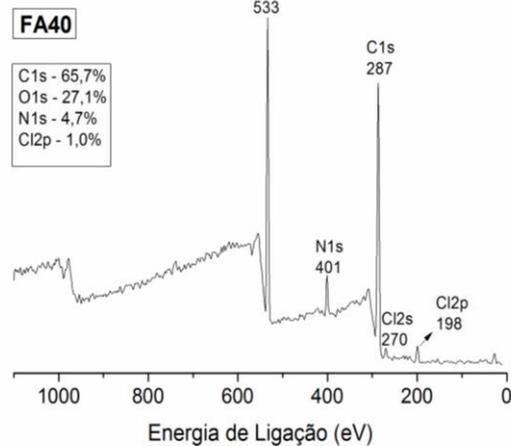
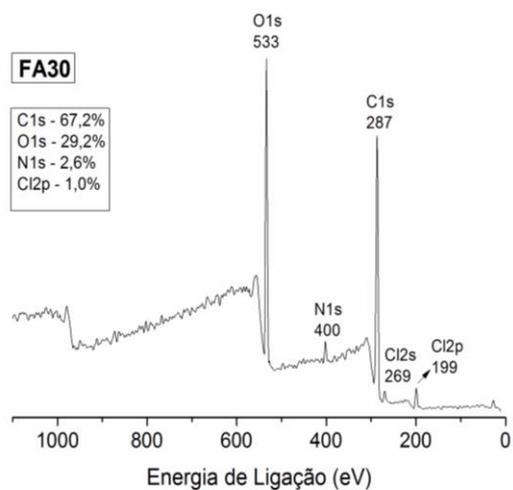
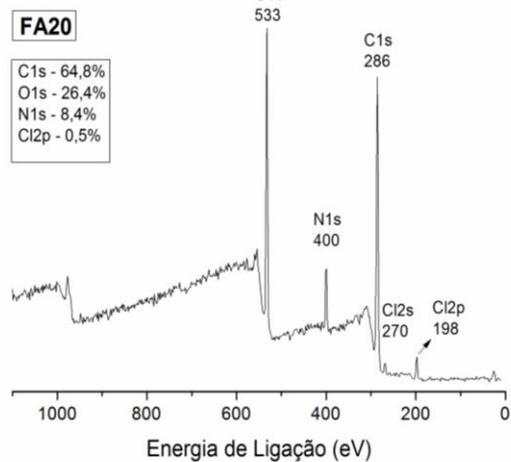
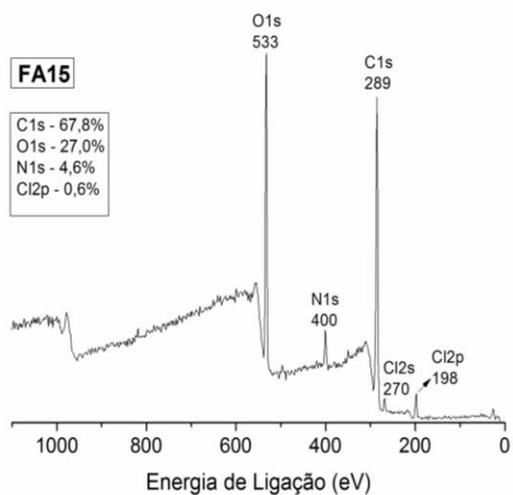
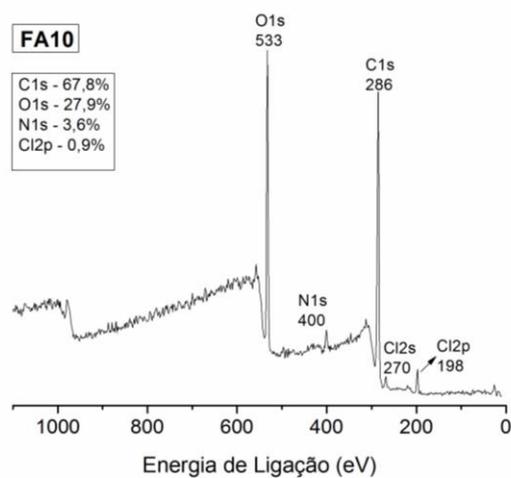
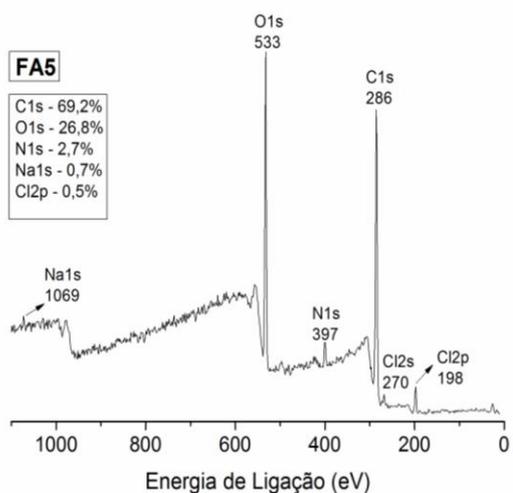
834  
835

#### 4.2 ESPECTROSCOPIA DE FOTOELÉTRONS DE RAIOS-X

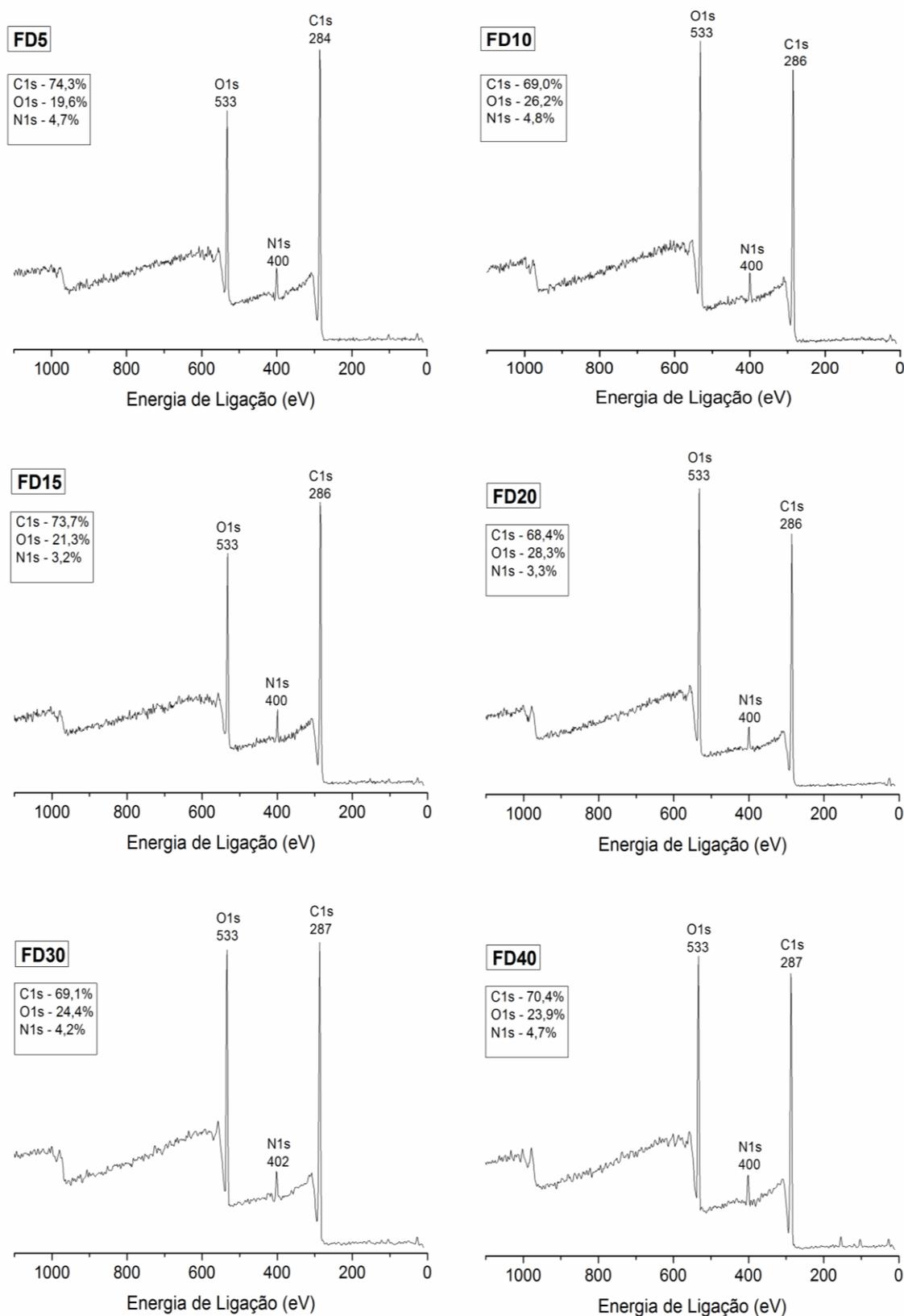
836

837           A composição química da superfície dos filmes foi caracterizada por meio  
838 de XPS. Espectros XPS (survey) estão apresentados na Fig. 8. Todos os espectros  
839 XPS mostram presença de picos característicos referentes aos elementos oxigênio  
840 (O1s em 533 eV), nitrogênio (N1s em 397-401 eV) e carbono (C1s 284-289 eV).  
841 Esses elementos estão presentes nas estruturas químicas da PT, QT e GLI. Em  
842 relação à composição química de cada amostra, a presença de cloro (Cl2p = 198 e  
843 199 eV) na superfície das amostras não lavadas está relacionada ao uso de HCl  
844 0,10 mol L<sup>-1</sup> no preparo das blendas. No entanto, destacamos que mesmo sem  
845 lavar, o conteúdo de Cl2p é baixo (entre 0,5 e 1,0%, Fig. 8). O excesso de HCl usado  
846 no preparo das blendas deve evaporar no processo de secagem e, por isso, o  
847 conteúdo de Cl2p é baixo na superfície dos filmes não lavados. Após lavagem, o  
848 HCl residual é removido dos filmes, pois os espectros XPS não indicam presença  
849 de picos Cl2p (Fig. 8). Esse fato confirma a eficácia do processo de lavagem dos  
850 filmes. Devido ao baixo teor de Cl2p identificado na superfície dos filmes não

851 lavados, esse estudo busca comparar as propriedades dos filmes de PT e QT não  
852 lavados e lavados.



854



855

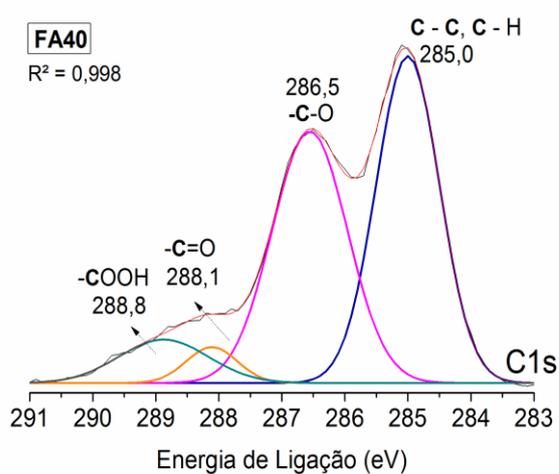
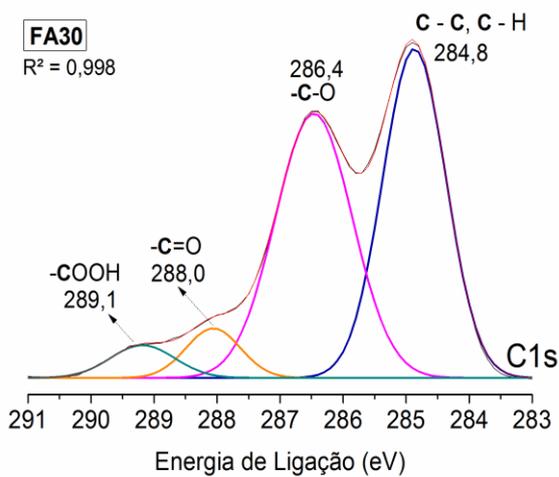
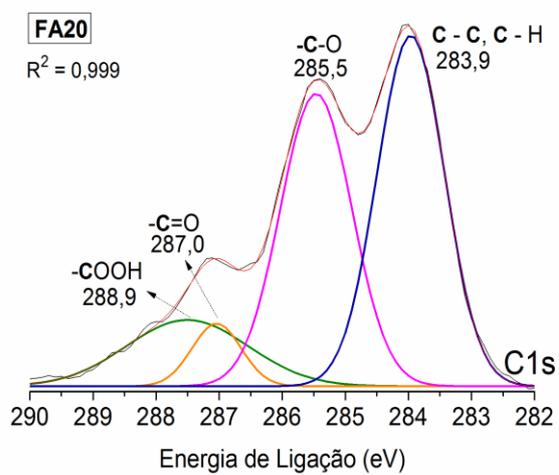
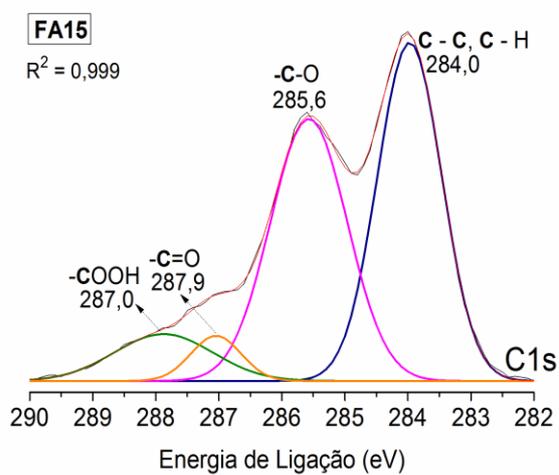
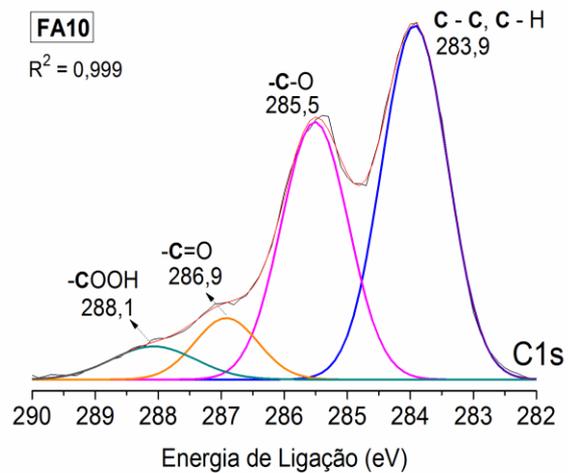
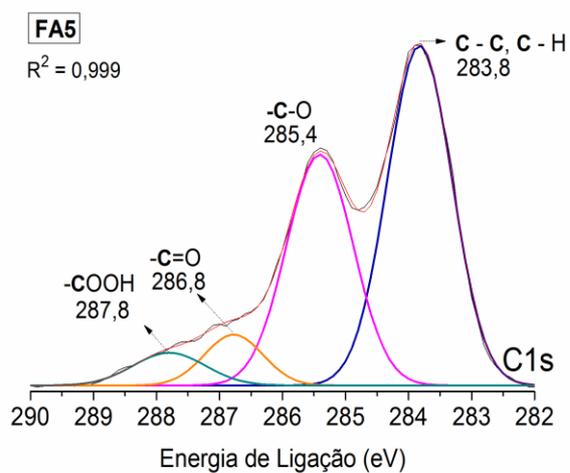
856

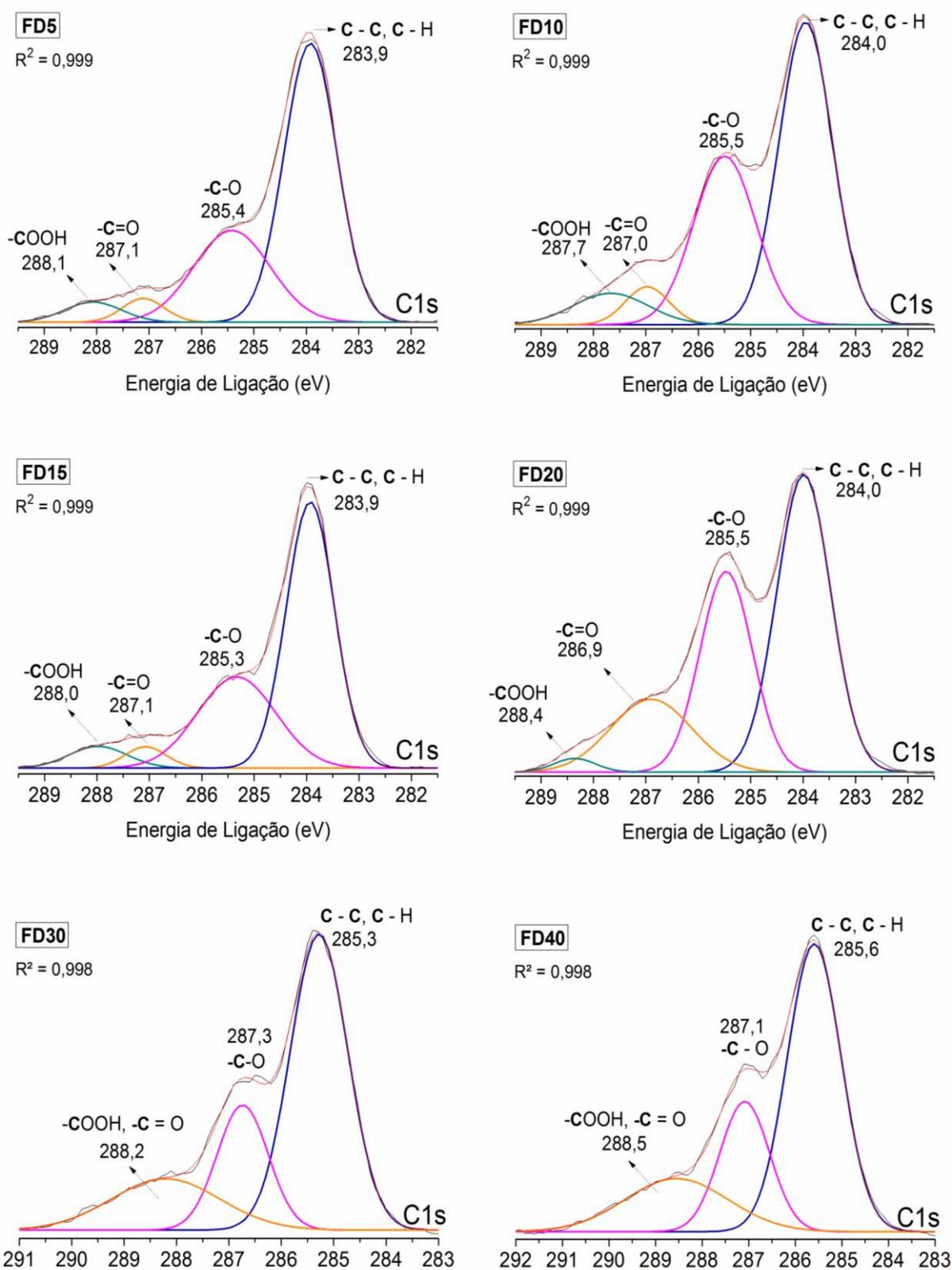
**Figura 8.** Espectros XPS (survey) das superfícies dos filmes não lavados (FA) e lavados (FD) contendo diferentes conteúdos de GLI.

857

858 Observou-se uma maior variação do conteúdo de N1s na superfície dos  
859 filmes FA, variando de 2,6 a 8,4% (Fig. 8). A concentração de nitrogênio presente  
860 na superfície das amostras pode variar mediante a região do filme que foi analisada.  
861 Enfatizamos que a proporção de QT utilizada no preparo dos filmes foi constante  
862 para todas as amostras (33% em relação ao conteúdo de PT). Os espectros XPS  
863 dos filmes FD também indicaram alteração no conteúdo de N1s (3,2 a 4,8%, Fig. 8).  
864 Porém, a variação no teor de N1s foi menor. O processo de lavagem deve  
865 reorganizar as cadeias dos materiais para configurações mais estáveis, alterando o  
866 conteúdo de QT na superfície dos filmes para valores próximos de 3,0 e 5,0%. O  
867 efeito de reorganização estrutural será confirmado por meio da análise TGA. Nas  
868 superfícies dos filmes FA, os conteúdos de C1s e O1s foram similares, sendo C1s  
869 entre 64,8 e 69,2% e O1s entre 26,4 e 29,2%. Esse efeito é explicado uma vez que  
870 PT, QT e GLI são majoritariamente constituídos por carbono e oxigênio. Depois da  
871 lavagem, os conteúdos de C1s e O1s também são alterados. A porcentagem de  
872 C1s na superfície dos filmes lavados variou entre 68,4 e 74,3%, enquanto a de O1s  
873 alterou entre 19,6 e 28,3%.

874 Recentemente, mostramos que o filme puro PT/QT (filme lavado e obtido na  
875 razão 67/23 m/m) apresentou teor C1s = 71,5%, O1s = 23,9% e N1s = 3,7%  
876 (Martins, et al., 2018a). Com base nos resultados de XPS, não podemos afirmar  
877 que parte do GLI está realmente presente na superfície dos filmes após lavagem.  
878 No entanto, as alterações das propriedades mecânicas, indicam que sim, ou seja,  
879 que o GLI pode estar presente na matriz dos filmes lavados. Assim, pequena  
880 quantidade do GLI deve permanecer na estrutura dos filmes lavados.  
881 Comparativamente, o teor C1s aumentou, enquanto o O1s diminuiu após a lavagem  
882 dos filmes. Esse efeito se deve a remoção do GLI na superfície dos filmes após o  
883 processo de lavagem. A análise dos espectros de XPS de alta resolução do  
884 envelope C1s ratifica esse resultado (Fig. 9).





886

887

888

889

**Figura 9.** Espectros XPS de alta resolução de amostras não lavadas e lavadas: envelope C1s.

890 Os espectros na Fig. 9 mostram a presença de grupos químicos  
891 característicos relacionados às estruturas dos polissacarídeos precursores e do  
892 GLI. Destacam-se picos das ligações –C–C e –C–H (região de 283,8 a 285,6 eV),  
893 –C–O (região de 285,3 a 287,3 eV), –C=O (região de 286,8 a 288,5 eV), e –COOH  
894 (região de 287,0 a 288,9 eV). Os picos XPS foram atribuídos de acordo com  
895 trabalhos publicados recentemente pelo nosso grupo de pesquisa (MARTINS, et al.,  
896 2018a; OLIVEIRA, et al., 2019).

897 Nos espectros XPS de alta resolução das amostras não lavadas observou-  
898 se aumento da intensidade do pico atribuído as ligações –C–O devido ao aumento  
899 do teor de GLI nos filmes. Esse efeito é evidente a partir da concentração de 20%  
900 (Fig. 9). Após lavagem, esse comportamento é desfeito. No geral, a intensidade do  
901 sinal atribuído as ligações –C–O diminui após lavagem, indicando remoção do GLI  
902 da superfície dos filmes (Fig. 9). O perfil dos envelopes nas amostras FD30 e FD40  
903 são diferentes em relação aos demais. Observou-se sobreposição de sinais  
904 referente aos grupos químicos –COOH e –C=O (Fig. 9). Esse efeito certamente está  
905 relacionado ao processo de lavagem e, conseqüente reorganização estrutural da  
906 matriz polimérica.

907  
908

#### 4.3 MEDIDAS DE ÂNGULO DE CONTATO

909

910 Medidas de ângulo de contato realizadas nas superfícies dos filmes  
911 contendo (15, 30 e 40% de GLI) foram avaliadas para compreender o efeito da  
912 adição do plastificante sobre a propriedade de molhabilidade. A Tabela 2 apresenta  
913 as medidas de ângulo de contato realizadas nas superfícies dos filmes FA e FD  
914 após 0 e 10 min de contato. Considerando as amostras FA, o aumento da  
915 concentração de GLI promoveu maior hidrofiliabilidade aos filmes. Após 10 min, o  
916 ângulo de contato medido foi de 72° (FA15), 63° (FA30) e 50° (FA40). A presença  
917 de GLI aumenta a molhabilidade da superfície, uma vez que o GLI apresenta grupos  
918 –OH polares, que interagem com moléculas de água via interações de ligação de  
919 hidrogênio (XU, et al., 2019). A molhabilidade da superfície influencia diretamente  
920 nas interações que podem ser estabelecidas com microrganismos (HANANI, 2018).

921

922  
923**Tabela 2.** Medidas de ângulo de contato realizadas pela adição de uma gota de água na superfície dos filmes FA e FD ( $t = 10$  min).

<b>Amostra</b>	<b>Ângulo (<math>t_0</math> min)</b>	<b>Ângulo (<math>t_{10}</math> min)</b>
<b>FA15</b>	107±6°	72±4°
<b>FA30</b>	93±10°	63±2°
<b>FA40</b>	112±8°	50±3°
<b>FD15</b>	109±7°	89±8°
<b>FD30</b>	93±4°	78±5°
<b>FD40</b>	95±2°	77±4°

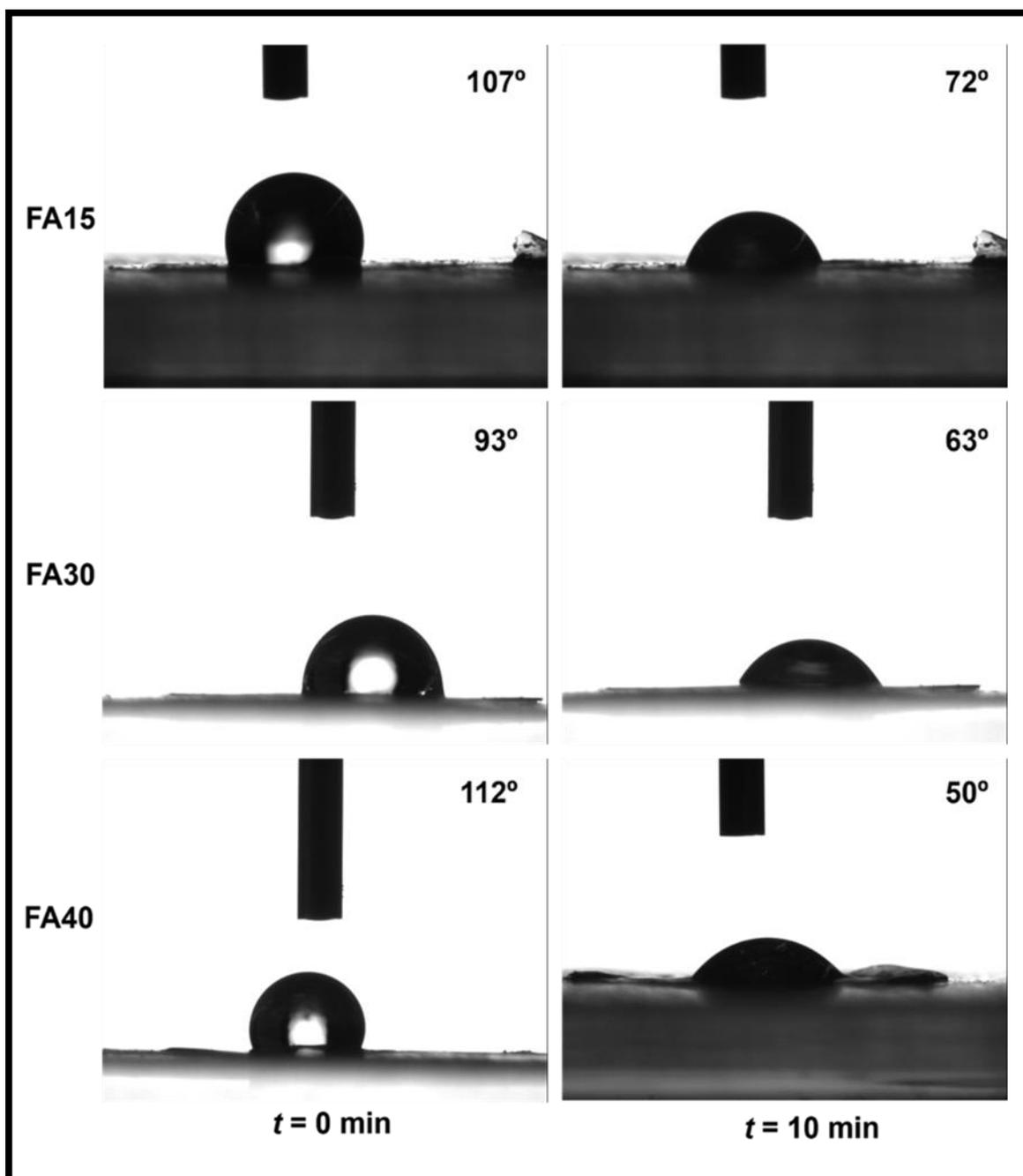
924

925 Com relação às amostras FD, após 10 min, observou-se valores de ângulos  
 926 de contato de 89° (FD15), 78° (FD30) e 77° (FD40). A partir da amostra FD15, os  
 927 ângulos de contato medidos sobre as superfícies dos filmes FD foram maiores em  
 928 comparação com os valores obtidos nas superfícies das amostras FA. A lavagem  
 929 altera significativamente as propriedades dos filmes. No caso das amostras FD15,  
 930 FD30 e FD40 a lavagem parece favorecer a ocorrência de interações no material.  
 931 O aumento da efetividade das interações promove valores de ângulo de contato  
 932 maiores, tornando a absorção de água mais lenta. Esse resultado concorda com as  
 933 medidas de resistência à tração já apresentadas (Seção 4.1), as quais indicaram  
 934 elevados valores de  $\sigma$  (faixa de 48 a 55 MPa) para os filmes FD15, FD30 e FD40.  
 935 A lavagem dos filmes deve promover uma reorganização estrutural das cadeias de  
 936 PT, QT e GLI nos materiais, alterando completamente a molhabilidade das  
 937 superfícies dos filmes. Filmes mais compactos devem levar um maior tempo para  
 938 adsorver a gota de água. Assim, os filmes FD15, FD30 e FD40 apresentaram  
 939 aumento de ângulo de contato após lavagem. Esse resultado também concorda  
 940 com os dados de XPS, que possivelmente, indicaram a remoção do GLI da  
 941 superfície dos filmes após lavagem. As medidas de ângulo de contato nos filmes  
 942 lavados foram similares aos valores de ângulo de contato estimados sobre a  
 943 superfície do filme puro lavado (FD0) de PT/QT (97° após  $t = 0$  min e 79° após  $t =$   
 944 10 min) (MARTINS, et al., 2018a). Esse resultado confirma realmente que o GLI foi  
 945 removido da superfície dos filmes após lavagem.

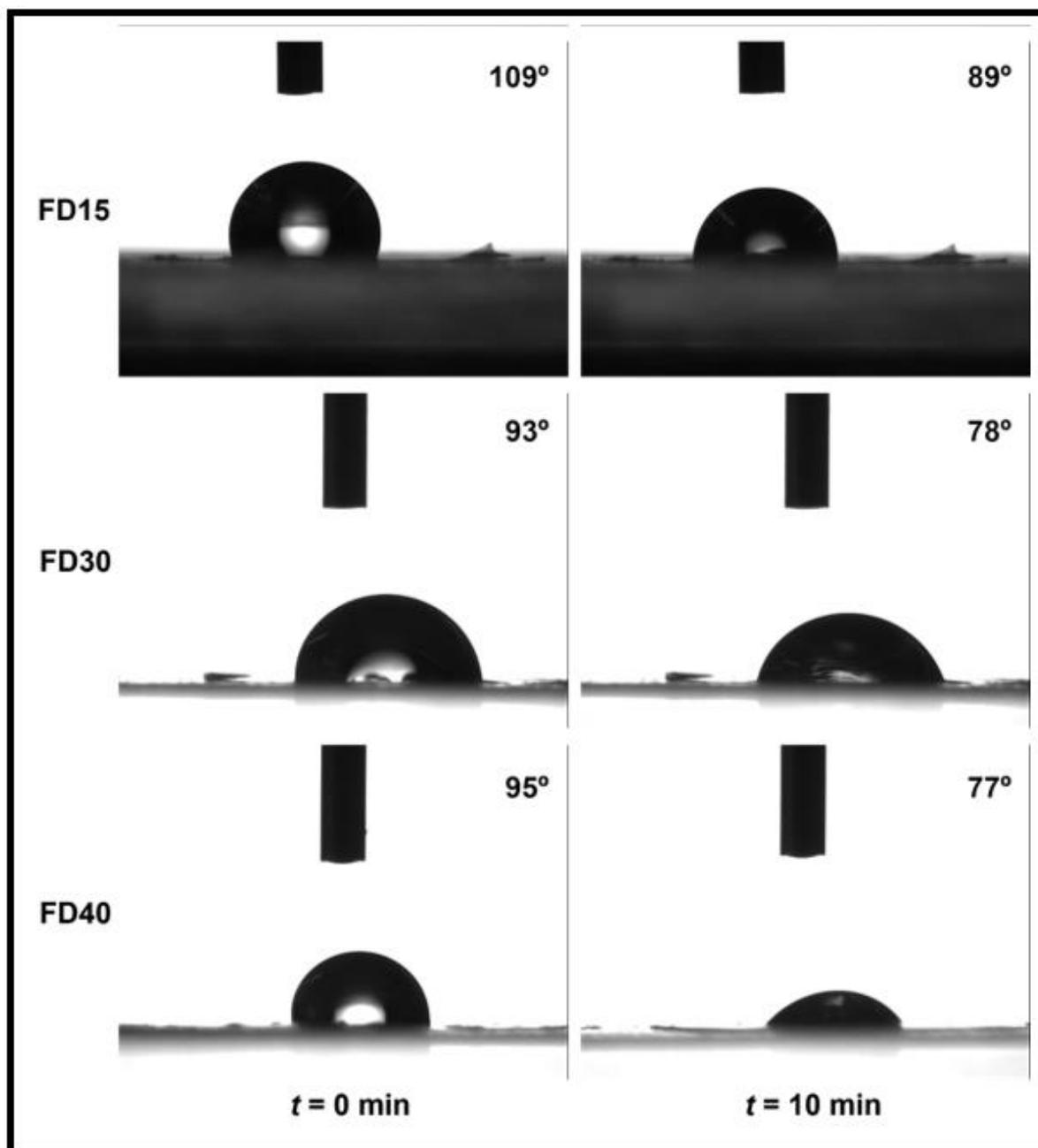
946

947 Os valores de ângulo de contato apresentados na Tabela 2 são ratificados por meio da análise das imagens digitais apresentadas na Fig. 10. As imagens

948 digitais das superfícies dos filmes obtidas após contato com uma gota de água em  
949 diferentes intervalos de tempo ( $t = 0$  e 10 min). Visualmente, constatou o aumento  
950 do ângulo de contato nas superfícies das amostras FD15, FD30, FD40 em relação  
951 às amostras FA15, FA30, FA40.  
952



953



954  
955

956 **Figura 10.** Imagens digitais das superfícies dos filmes após o contato com uma gota de água em  
957 diferentes tempos ( $t = 0$  e  $10$  min).

958

959 Superfícies hidrofílicas como deste trabalho, foram obtidas por Siracusa e  
960 colaboradores (2018) ao produzirem filmes à base de óleo essencial de citral,  
961 alginato e PT para aplicação em embalagens para alimentos. Os filmes foram  
962 preparados pelo mesmo método reportado neste estudo. Foram preparados três  
963 tipos de amostras (filme puro de 2,0% m/m de alginato de sódio; filme puro de 2,0%  
964 m/m de PT; filme composto pela mistura de 1,0% (m/m) de alginato de sódio e 1,0%  
m/m de PT). Para cada formulação foram adicionados 1,5% m/m de glicerol e 0,2%

965 m/m de Tween<sup>®</sup> 20. Diferentes conteúdos de óleo essencial de citral (0, 0,15 e 0,3%)  
966 (m/m) foram incorporados nas amostras. Os resultados de ângulo de contato  
967 apresentaram um alto caráter hidrofílico, variando o ângulo de contato entre 35° e  
968 49°. Os autores observaram que a incorporação do óleo essencial de citral  
969 proporcionou ângulos de contato maiores, em decorrência de sua natureza  
970 hidrofóbica. Desta forma, o óleo essencial de citral diminui a molhabilidade dos  
971 filmes (SIRACUSA, et al., 2018).

972 O caráter hidrofílico de filmes utilizados para embalagens alimentícias  
973 também foi observado no trabalho de Norcino e colaboradores (2018), em que  
974 desenvolveram filmes de PT e QT por meio de reticulação iônica. Foram preparados  
975 filmes puros de PT e QT e, também, filmes QT/PT em proporção mássica de 75/25,  
976 50/50 e 25/75. Medidas de ângulo de contato foram obtidas após 1 min. Todos os  
977 filmes apresentaram característica hidrofílica. Os valores dos ângulos de contato  
978 dos filmes puros foram de aproximadamente 85° para o filme de PT e 64° para o  
979 filme de QT. Os filmes QT/PT apresentaram ângulos de contato de 74°, 87° e 88°  
980 nas razões 75/25, 50/50 e 25/75, respectivamente. Os autores concluíram que estes  
981 materiais podem ser utilizados como carreadores de medicamentos e embalagens  
982 para produtos agrícolas e alimentares (NORCINO, et al., 2018). Certamente, a  
983 molhabilidade da superfície de um filme é um parâmetro importante que deve  
984 influenciar na aplicação de embalagem de alimentos.

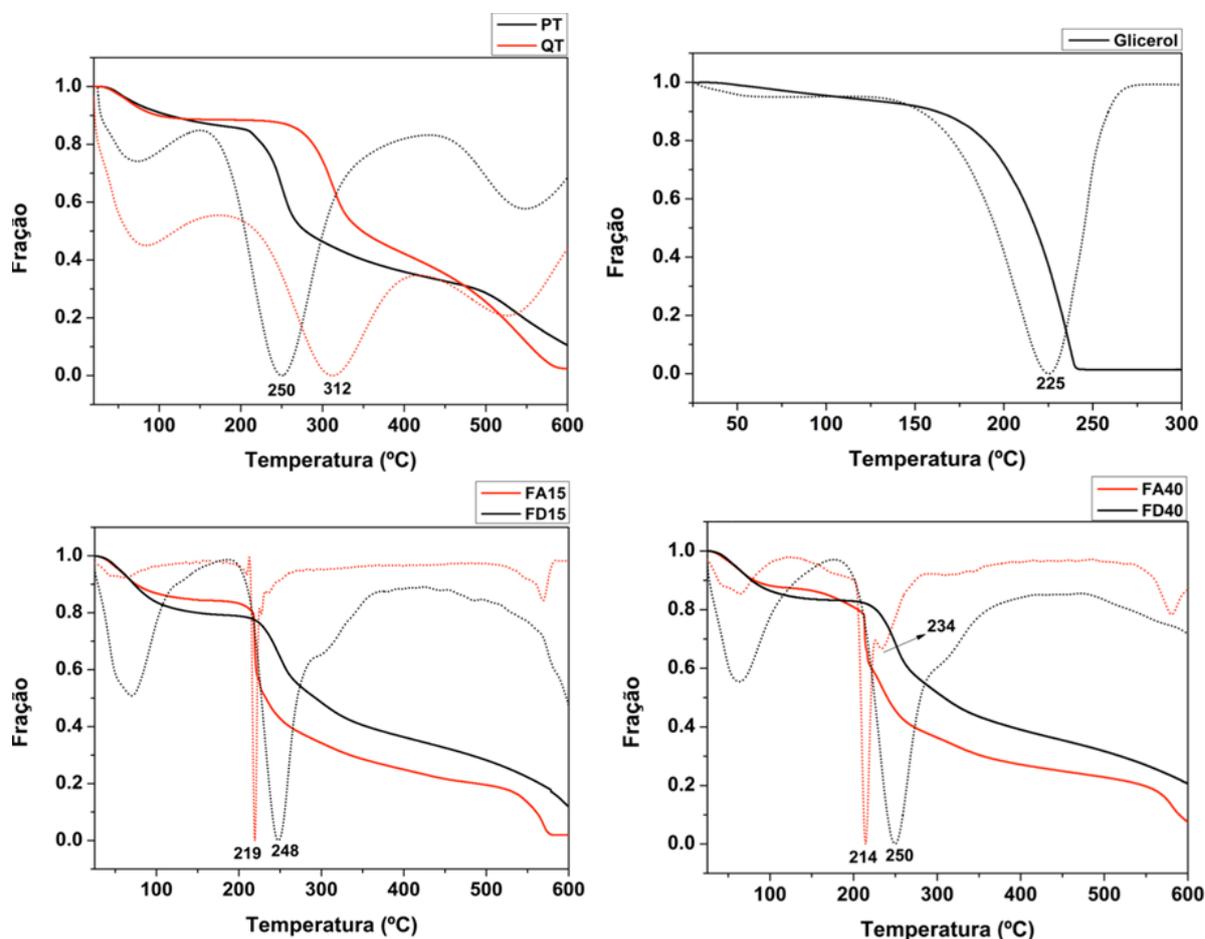
985  
986

#### 4.4 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA

987

988 Os resultados de análise termogravimétrica (TGA/DTG) dos polímeros  
989 precursores QT (pó) e um filme de PT puro não lavado e sem glicerol, glicerol puro,  
990 dos filmes FA15 e FA40 (amostras não-lavadas) e filmes FD15 e FD40 (amostras  
991 lavadas) são mostrados na Fig. 11. Os precursores QT e PT exibiram três eventos  
992 principais nas curvas TGA/DTG (SOUTO-MAIOR et al., 2010; GORRASI; BUGATTI;  
993 VITTORIA, 2012). O primeiro evento (entre 40 e 152 °C) corresponde a perda de  
994 água e compostos voláteis. O segundo evento (entre 152 a 450 °C) é referente a  
995 degradação das cadeias poliméricas (decomposição pirolítica). O terceiro evento  
996 (entre 450 a 600 °C) está associado à degradação de subprodutos (MARTINS, et

997 al., 2018b). O GLI apresentou um evento de degradação característico em 225 °C,  
 998 o qual corresponde à sua vaporização (DICK, et al., 2015; LECETA, et a., 2013).  
 999



1000  
 1002 **Figura 11.** Curvas TGA/DTG: QT (pó) e filme de PT puro não-lavado e sem GLI, GLI puro, filmes  
 não lavados e lavados com 15 e 40% de GLI.

1003

1004 As curvas TGA/DTG dos filmes não lavados (FA15 e FA40) e lavados (FD15  
 1005 e FD40) indicam um evento térmico referente a perda de água e componentes  
 1006 voláteis. O conteúdo de água e materiais voláteis foram similares (16 a 20%, Fig.  
 1007 11). No entanto, os filmes FD15 e FD40, apresentaram maior estabilidade térmica  
 1008 em relação aos filmes FA15 e FA40. O segundo evento térmico, atribuído a  
 1009 degradação dos filmes ocorrem deslocados para maiores temperaturas nas curvas  
 1010 TGA dos filmes lavados (219 °C para o filme FA15, 248 °C para o filme FD15, 214  
 1011 °C para o filme FA40 e 250 °C para o filme FD40, Fig. 11). No caso da amostra  
 1012 FA40, observou-se um evento em 234 °C que deve ser atribuído a presença de GLI  
 1013 na amostra.

1014 Estes resultados corroboram com os dados obtidos nos ensaios  
1015 mecânicos. O aumento de estabilidade térmica nas amostras FD15 e FD40 se deve  
1016 à reorganização estrutural das cadeias de PT, QT e GLI nos filmes. A reorganização  
1017 intensifica a ocorrência de interações intermoleculares nas amostras após o  
1018 processo de lavagem. Esse efeito aumenta a resistência à tração das amostras.

1019 Os resultados de análise termogravimétrica reportados neste trabalho foram  
1020 comparados com o trabalho desenvolvido por Martins e colaboradores (2018) em  
1021 que confeccionaram filmes de PT e QT variando a razão PT/QT nas blendas  
1022 poliméricas (50/50, 67/33 e 74/26) sem adição de um agente plastificante. Os  
1023 resultados de análise termogravimétrica mostraram que os filmes não lavados  
1024 apresentaram eventos de degradação em torno de 235 °C, e as amostras lavadas  
1025 em 253 °C (MARTINS, et al., 2018b). Comparando a temperatura dos filmes não  
1026 lavados (filmes PT/QT puro e filmes FA15 e FA40), a presença de GLI diminuiu a  
1027 estabilidade térmica dos filmes não lavados em 16 °C (FA15) e 21 °C (FA40),  
1028 mostrando que o GLI promove redução nas temperaturas de degradação conforme  
1029 o aumento de sua concentração. Para as amostras lavadas (filmes de PT/QT puro  
1030 e filmes FD15 e FD40), os eventos de degradação ocorreram em temperaturas  
1031 próximas (diferença de apenas 2 °C entre os filmes PT/QT puro (FD0) e FD40 e,  
1032 diferença de 5 °C entre as amostras FD0 e FD15). Essa diferença entre as  
1033 temperaturas de degradação pode ser devido à presença de GLI residual na matriz  
1034 dos filmes lavados e consequente reorganização estrutural da matriz polimérica.

1035 A redução da estabilidade térmica promovida pela adição do GLI foi  
1036 observada também no trabalho de Xu e colaboradores (2019) em que  
1037 desenvolveram filmes de QT e hemicelulose, reforçados com diferentes proporções  
1038 de nanofibras de celulose (5, 10, 15 e 20%) para aplicação em embalagens para  
1039 alimentos. Três tipos de plastificantes (glicerol, sorbitol e xilitol) foram incorporados  
1040 na matriz dos filmes na proporção 10, 20, 30 e 40%. Os resultados de TGA  
1041 evidenciaram que o filme sem GLI apresentou evento de degradação em 169 °C,  
1042 enquanto os filmes com GLI, apresentaram eventos de degradação em 146 °C (filme  
1043 com 20% de GLI), 142 °C (filme com 30% de GLI) e 139 °C (filme com 40% de GLI).  
1044 A adição do GLI ocasionou uma tendência na diminuição da estabilidade térmica do  
1045 material quando comparado ao filme sem GLI (XU, et al., 2019). Um aumento de 30  
1046 para 40% na concentração de GLI diminuiu a estabilidade térmica do filme em apenas

1047 3 °C. Portanto, os resultados desse estudo estão em acordo com os dados  
1048 reportados por Xu e colaboradores (2019). No entanto, esse efeito depende do  
1049 sistema polimérico investigado, bem como do conteúdo de GLI adicionado ao meio.

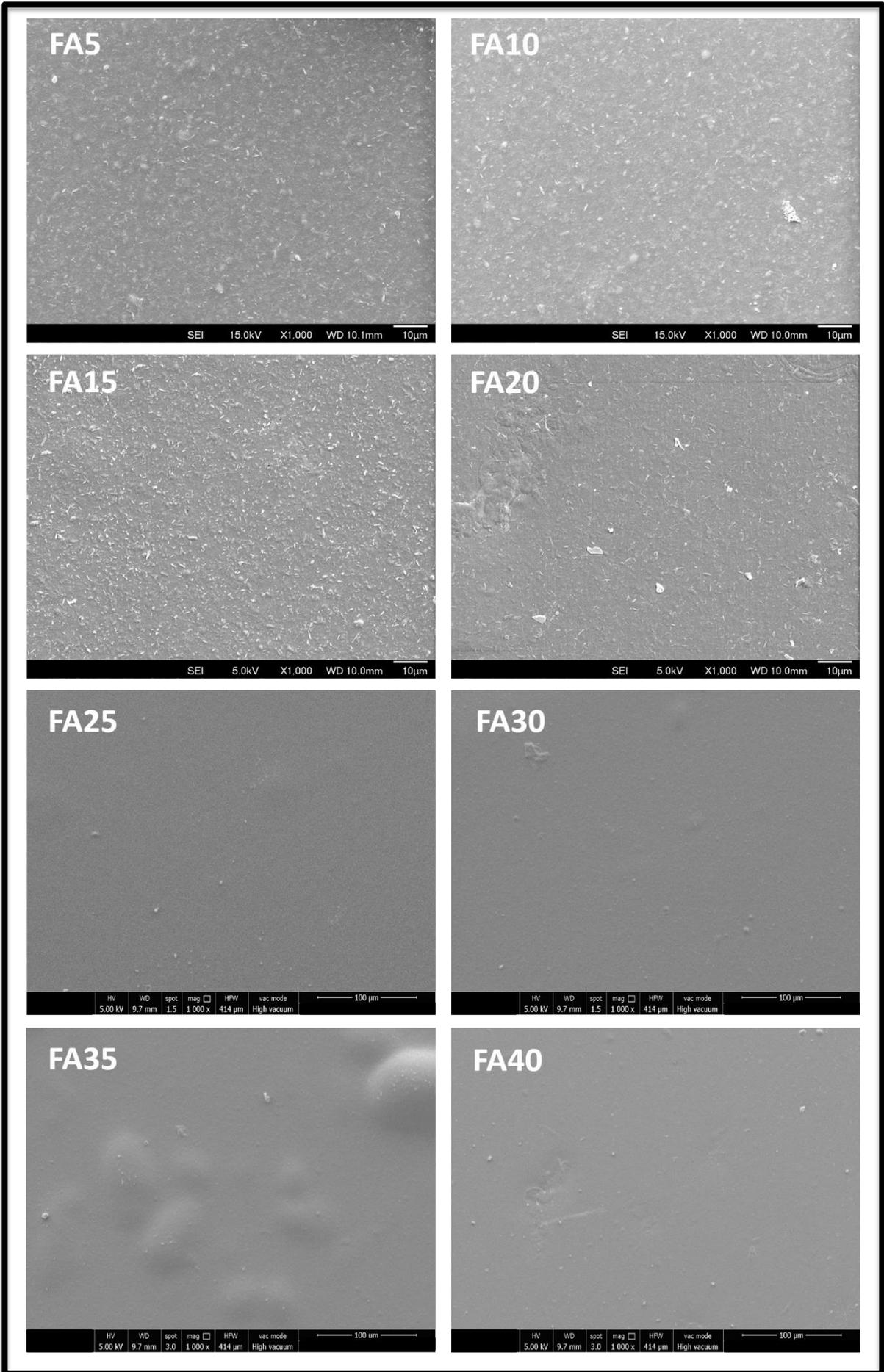
1050  
1051

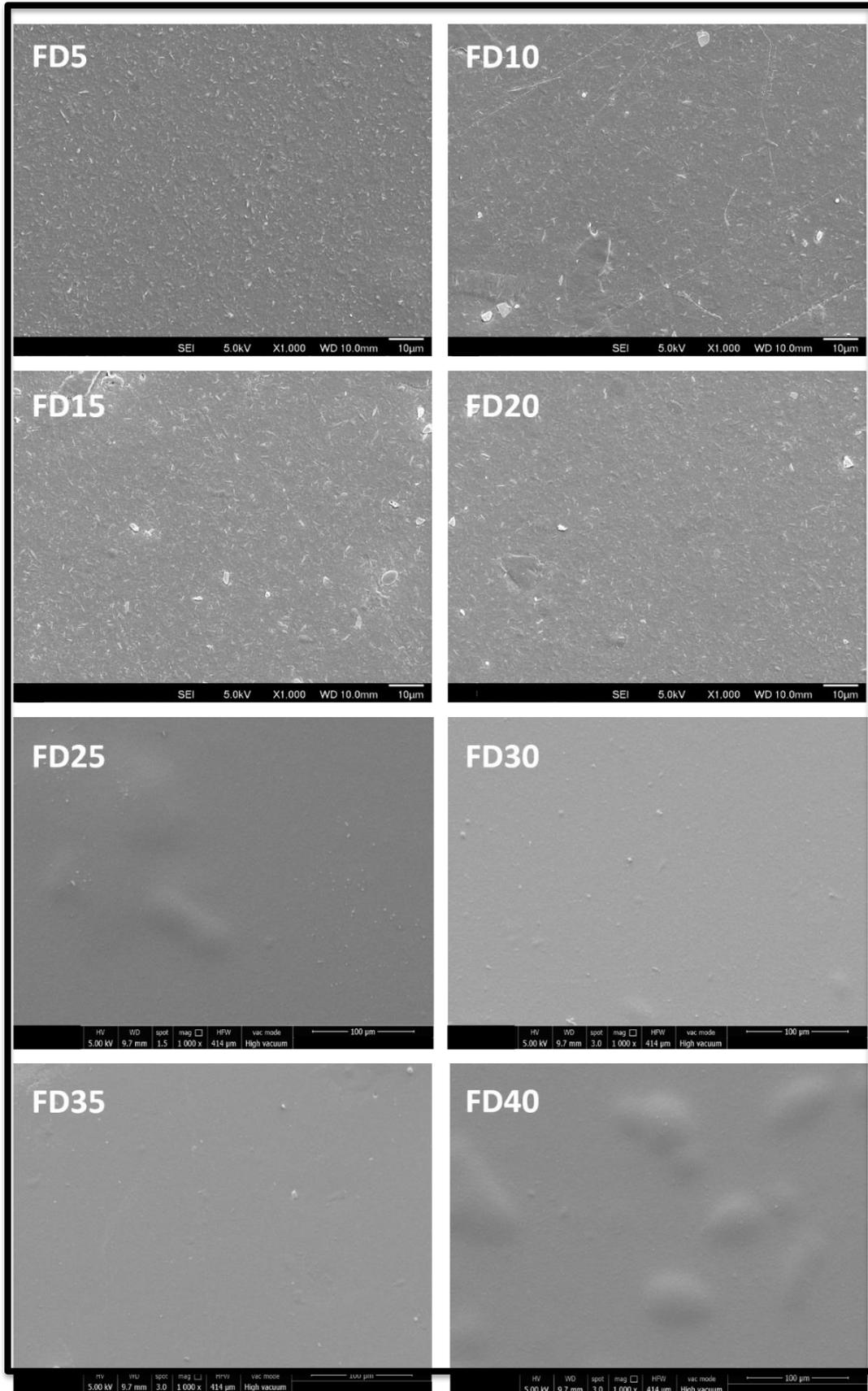
#### 4.5 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

1052

1053 A Fig. 12 mostra imagens SEM das superfícies dos filmes secos (não  
1054 lavados e lavados) contendo GLI. Foram obtidos filmes com superfícies  
1055 homogêneas e compactas, corroborando com os resultados de análise mecânica.  
1056 Esse comportamento já foi observado em filmes de PT/QT sem a presença de GLI  
1057 (MARTINS, et al., 2018). Além disso, a morfologia das superfícies não indica a  
1058 presença de poros e irregularidades, mesmo após a lavagem dos materiais (Fig.  
1059 12). A incorporação do GLI também não alterou a morfologia das superfícies.

1060 Características similares a superfícies dos filmes deste trabalho foram  
1061 reportadas por Maciel e colaboradores (2015) em que desenvolveram complexos  
1062 polieletrólitos de PT/QT para aplicar como indicadores de pH. Antocianina (0,25  
1063 g) foi adicionada na suspensão de QT, para a preparação do filme. As imagens SEM  
1064 mostraram que os filmes possuem superfícies lisas, homogêneas e sem poros.  
1065 (MACIEL, YOSHIDA, FRANCO, 2015). Entretanto, outros autores obtiveram filmes  
1066 com excesso de PT com irregularidades na superfície e sem à presença de poros,  
1067 como foi reportado por Baron e colaboradores (2017) ao desenvolverem filmes de  
1068 PT/QT/GLI modificando a relação de peso PT/QT na faixa de 100/0, 75/25, 50/50,  
1069 25/75 e 0/100. A concentração de GLI utilizada foi de 0,2% m/m (BARON, et al.,  
1070 2017). Esse presente estudo mostra o desenvolvimento de filmes com excesso de  
1071 PT na matriz dos materiais. Obteve-se filmes estáveis, sem a presença de  
1072 irregularidades. Estas características são importantes para utilização deste material  
1073 para embalagens alimentícias, pois podem proteger o alimento durante o seu  
1074 transporte e manuseio, como também auxiliar na preservação do mesmo contra  
1075 água, oxigênio e outros tipos de contaminantes.





**Figura 12.** Imagens SEM dos filmes não lavados e lavados de PT/QT contendo diferentes concentrações de GLI (imagens obtidas na ampliação 1000 $\times$  e escala 10  $\mu$ m).

1077  
1078  
1079  
1080

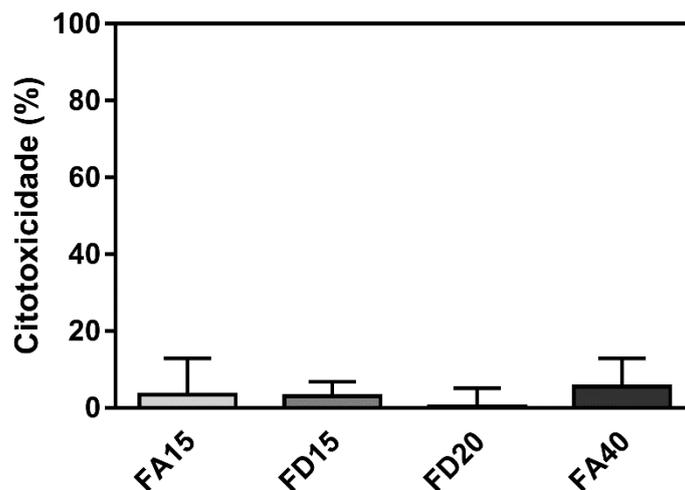
#### 1081 4.6 CITOTOXICIDADE DOS FILMES

1082

1083 O ensaio de citotoxicidade foi determinado por meio da liberação de LDH  
1084 das células. Esta enzima solúvel é encontrada no citoplasma, sendo liberada da  
1085 estrutura celular após perda da integridade da membrana. A LDH atua como um  
1086 marcador da integridade física da membrana celular (MARTINS, et al., 2018a). A  
1087 citotoxicidade (%) das amostras é normalizada com base nos resultados  
1088 promovidos por dois controles, sendo o PS (controle negativo) e o Triton X (solução  
1089 aquosa a 1,0 vol%, controle positivo). Durante o teste de citotoxicidade, algumas  
1090 células morrem mesmo sem estar em contato com o agente citotóxico. Por isso, um  
1091 experimento controle com PS foi realizado para verificar a liberação espontânea de  
1092 LDH a partir de células que morrem sem ação de um agente citotóxico no meio. A  
1093 utilização do PS como controle positivo se deve à sua reconhecida  
1094 citocompatibilidade (RAMIN, et al., 2019). Como controle negativo, as células foram  
1095 tratadas com Triton X por propiciar a liberação do conteúdo total de LDH. O Triton  
1096 causa permeabilidade das células, promovendo a morte das mesmas (MARTINS,  
1097 et al., 2018a).

1098 A citotoxicidade dos filmes FA15, FD15, FD20 e FA40 foi investigada sobre  
1099 células ADSCs (células tronco do tecido adiposo humano) após 24 h, utilizando o  
1100 teste LDH (Fig. 13). Estes filmes foram selecionados por apresentarem maior ( $\epsilon\%$ )  
1101 (amostra FA40) e ( $\sigma$ ) (amostras FD15 e FD20). No caso da amostra FD15 (após  
1102 lavagem) sua citotoxicidade foi comparada com a amostra FA15. Os filmes, FA15,  
1103 FD15, FD20 e FA40 promoveram citotoxicidade de 3,49, 3,03, 0,38 e 5,50,  
1104 respectivamente ( $p > 0,95$ ).

1105



**Figura 13.** Resultados de citotoxicidade (%) sobre células tronco do tecido adiposo (ADSCs) após 24 h de incubação determinados pelo teste LDH.

1106  
1107  
1108  
1109

1110 Todas as amostras foram consideradas citocompatíveis para as células  
1111 ADSCs. A baixa citotoxicidade das amostras pode ser justificada devido à  
1112 similaridade na estrutura, que os filmes a base de polissacarídeos apresentam em  
1113 relação à matriz extracelular (ECM), que é composta por glicosaminoglicanos,  
1114 proteoglicanos e proteínas. A ECM media as interações entre as células e o  
1115 material, atuando em eventos importantes, tais como na fixação de células na  
1116 superfície de materiais, na proliferação, orientação e diferenciação celular  
1117 (MARTINS, et al., 2018a).

1118 Destacamos que mesmo os filmes não lavados apresentaram  
1119 citocompatibilidade. Esse efeito se deve à baixa concentração residual de HCl nos  
1120 filmes. Esse fato foi confirmado por meio da análise XPS. Outro fator que também  
1121 deve ter contribuído para esse resultado, é o fato do teste de citotoxicidade ter sido  
1122 realizado em um meio de cultura líquido, cujo pH é próximo de 7,0. O meio pode  
1123 ajudar na neutralização do HCl remanescente nas matrizes dos filmes. Via método  
1124 LDH, mostramos recentemente que filmes puros de PT/QT possuem  
1125 citocompatibilidade sobre células ADSC (MARTINS, et al., 2018a).

1126 Outros pesquisadores avaliaram a citotoxicidade de filmes por meio do teste  
1127 LDH. Pandele e colaboradores (2014) desenvolveram filmes a base de óxido de  
1128 grafeno/QT/álcool polivinílico. Para o preparo dos filmes foi utilizada uma razão  
1129 QT/PVA 50/50 m/m. Diferentes conteúdos de óxido de grafeno foram incorporados  
1130 nas amostras (0,5, 1,0, 2,5 e 6,0%). O potencial citotóxico dos filmes foi avaliado  
1131 sobre células de osteoblastos por meio do kit LDH. Os meios de cultura foram

1132 colhidos em 2, 4 e 7 dias após a semeadura. Os resultados demonstraram que  
1133 filmes com 6,0% de óxido de grafeno apresentaram maior citocompatibilidade em  
1134 comparação com as outras amostras nos dias respectivos de análise (PANDELE,  
1135 et al., 2014). Os resultados de citotoxicidade dos filmes FA e FD demonstraram que  
1136 esses materiais podem ser utilizados para embalagens alimentícias, porque não  
1137 possuem potencial citotóxico.

1138  
1139

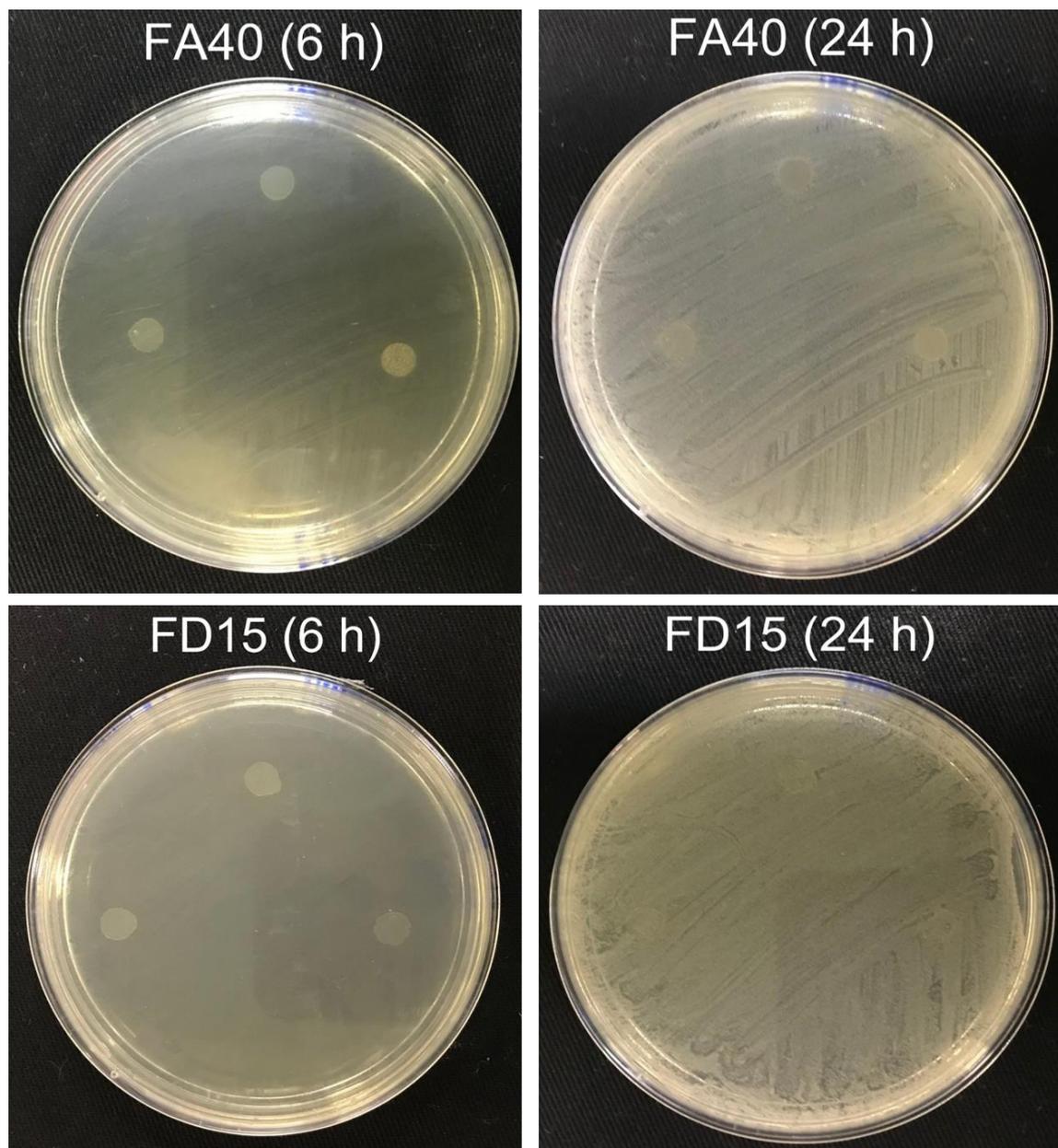
#### 4.7 ENSAIO ANTIMICROBIANO VIA MÉTODO DISCO-DIFUSÃO

1140

1141 Com base nos resultados de propriedades mecânicas (amostra FA40  
1142 apresentou maior  $\varepsilon$  (19%), enquanto o filme FD15 mostrou maior  $\sigma$  (55 MPa)) e  
1143 citocompatibilidade, optamos por escolher o filme FD15 e FA40 para estudos  
1144 posteriores. Os mesmos foram submetidos à testes antimicrobianos contra *E. coli*.  
1145 A escolha desta bactéria patogênica está vinculada à sua ação na contaminação de  
1146 produtos alimentícios (SIRIPATRAWAN, VITCHAYAKITTI, 2016) e intoxicação  
1147 alimentar (MOSTAFA, et al., 2018). É bem conhecido que a QT apresenta atividade  
1148 antimicrobiana contra bactérias Gram-negativas e Gram-positivas. Esta  
1149 característica está interligada ao seu mecanismo de ação, envolvendo interações  
1150 eletrostáticas com a parede celular bacteriana e constituintes citoplasmáticos  
1151 (DUAN, et al., 2019).

1152 O efeito inibitório sobre o crescimento de bactérias *E. coli* (Gram-negativa)  
1153 foi investigado após 6 e 24 h de contato (Fig. 14). Os resultados mostram que não  
1154 houve a formação de halos de inibição. Desta forma, não houve a difusão de íons  
1155  $H_3O^+$  (remanescente do HCl) e de QT a partir dos filmes. Por outro lado, destaca-  
1156 se que não houve crescimento de *E. coli* sobre a amostra FA40, enquanto sobre a  
1157 FD15, a *E. coli* recobriu totalmente a superfície do filme. Esse resultado indica que  
1158 a superfície do filme FA40 pode promover efeito anti-adesivo sobre a *E. coli*. Esse  
1159 efeito ainda será melhor investigado.

1160



1161

1162

1163

1164

1165

1166

1167

1168

1169

1170

1171

1172

**Figura 14.** Imagens digitais das placas de cultura de *E. coli* contendo discos (6,0 mm) dos filmes FA40 e FD15, após 6 e 24 h de incubação a 37 °C (pH 7,4).

A variação de um componente com característica antimicrobiana, como a QT, pode promover melhores resultados antimicrobianos, como demonstrada por Soni e colaboradores (2018) em que avaliaram as atividades antimicrobianas via método disco-difusão em bactérias *Salmonella entérica*, *E. coli* O157:H7 e *Listeria monocytogenes*, por meio de filmes biocompostos de QT/TEMPO (radical 2,2,6,6-tetrametilpiperidina-1-oxila) variando suas proporções, respectivamente (100/0, 85/15 e 75/25). Estes filmes foram incorporados com sorbitol (25%) e nanofibras de celulose (0, 15 e 25%). Os resultados antimicrobianos comprovaram que a

1173 proporção QT (100/0) apresentou maior atividade antimicrobiana contra todas as  
1174 linhagens bacterianas, devido a maior concentração de grupos  $\text{-NH}_3^+$  presente na  
1175 amostra em pHs menores que 6,3 (SONI, et al., 2018).

1176  
1177

#### 4.8 ENSAIO DE ADESÃO E PROLIFERAÇÃO DE BACTÉRIAS

1178

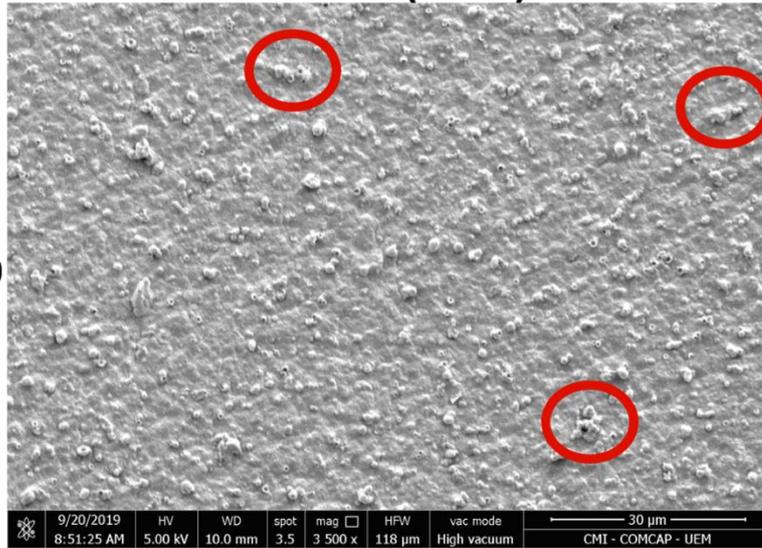
1179 Além do ensaio antimicrobiano via método disco-difusão, os filmes FA15 e  
1180 FD40 foram submetidos ao ensaio antimicrobiano de adesão e proliferação.  
1181 Imagens SEM mostram (após 24 h de contato) que não ocorre adesão de células  
1182 *E. coli* com morfologia regular na superfície do filme FA40 após este tempo (Fig.  
1183 15). Por outro lado, na superfície do filme FD15, células *E. coli* com estrutura regular  
1184 encontram-se aderidas à superfície. No entanto, as células *E. coli* estão agregadas  
1185 em algumas regiões da superfície. Esse resultado sugere que o filme FA40  
1186 apresenta atividade antiadesiva sobre a *E. coli*, enquanto o filme FD15 não  
1187 apresenta tal propriedade. Esse efeito corrobora com o resultado apresentado na  
1188 Seção anterior. O PS foi escolhido como controle negativo por não possuir atividade  
1189 antimicrobiana e antiadesiva, sendo também utilizado como embalagens  
1190 alimentícias (MARTINS, et al., 2020). Em comparação ao PS, os filmes FA40 e  
1191 FD15 não apresentam atividade antiadesiva e bactericida, pois células *E. Coli* com  
1192 morfologia regular recobrem totalmente a superfície do PS após 24 h (Fig. 15).

1193

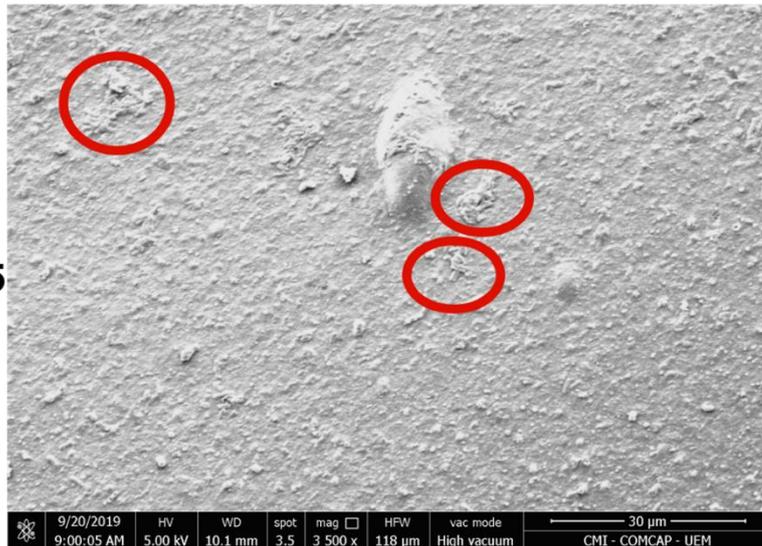
1194

***E. coli* (24 h)**

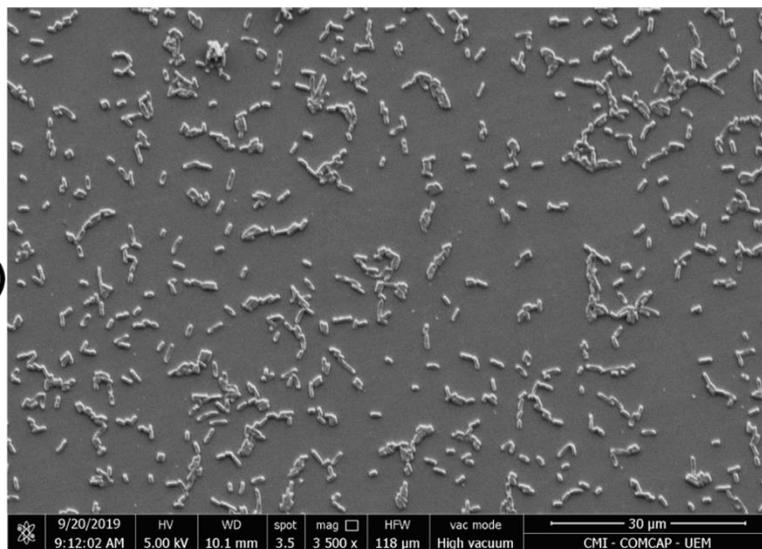
FA40



FD15



Controle (PS)

1195  
1196  
1197

**Figura 15.** Imagens SEM do filme não lavado (FA40) e lavado (FD15) incubados com *E. coli* após 24 h.

1198 A capacidade anti-adesiva do filme FA40 decorre da molhabilidade da  
1199 superfície do filme (ângulo de contato de 50° após 10 min) em relação aos filmes  
1200 FD15 (ângulo de contato de 89° após 10 min de contato) e PS (ângulo de contato  
1201 de 82° (MARTINS, et al., 2020). As paredes celulares de bactérias Gram-negativas  
1202 são revestidas por uma fina camada de glicoproteínas e recobertas por uma  
1203 espessa camada composta principalmente por lipoproteínas e lipídios. Desta  
1204 maneira, filmes com superfície hidrofóbica propiciam interações favoráveis com as  
1205 paredes celulares das bactérias aumentando a adesão microbiana. Neste contexto,  
1206 a superfície do filme FA40 de caráter majoritariamente hidrofílico, impede a fixação  
1207 e conseqüentemente o crescimento de bactérias (MARTINS, et al., 2020).

1208 A ação bactericida dos filmes está interligada a presença do grupo catiônico  
1209  $-NH_3^+$  da QT. O grupo amino protonado pode interagir eletrostaticamente com o  
1210 fosfolipídio dipalmitoilfosfatidilglicerol (DPPG), principal componente da membrana  
1211 celular de bactérias Gram-negativas. Essa interação proporciona aumento da  
1212 permeabilidade da membrana celular, ocasionando evasão de componentes  
1213 intracelulares, como ácido nucleico e glicose, impedindo o transporte destes  
1214 nutrientes para as células microbianas. As etapas citadas acima podem ocasionar  
1215 a morte da bactéria (FACCHI, FACCHI, MARTINS, 2016; MARTINS, et al., 2020).

1216 Martins e colaboradores (2020) desenvolveram filmes finos de PT/QT (PT-  
1217 QT) e *iota*-carragena/QT (IC-QT) via método layer-by-layer. Os testes de adesão e  
1218 proliferação de bactérias *Pseudomonas aeruginosa* (Gram-negativa) e  
1219 *Staphylococcus aureus* (Gram-positiva) indicaram que os filmes finos apresentam  
1220 propriedades anti-adesivas e bactericida sobre ambas as linhagens de bactérias  
1221 após 24 h de incubação. Os resultados desta análise demonstraram que o número  
1222 de bactérias *P. aeruginosa* aderidas a superfície do material foi de apenas 11  
1223 bactérias para cada  $cm^{-2}$  de superfície do filme fino IC-QT e 47 bactérias para cada  
1224  $cm^{-2}$  de superfície do filme fino PT-QT (MARTINS, et al., 2020). Materiais à base de  
1225 PT/QT podem proporcionar baixa adesão microbiana e atividade bactericida,  
1226 estando em acordo com os resultados obtidos neste trabalho. No entanto, essas  
1227 propriedades são dependentes da metodologia usada no preparo dos materiais. Os  
1228 resultados demonstraram que os filmes apresentaram atividade antimicrobiana  
1229 contra a bactéria *E. coli*. Desta forma, estes materiais podem promover proteção

1230 para os alimentos contra microrganismos. Provavelmente, o potencial  
1231 antimicrobiano dos filmes deve-se a presença da QT na matriz polimérica.

1232  
1233

#### 4.9 TAXAS DE PERMEABILIDADE A VAPOR DE ÁGUA E OXIGÊNIO

1234

1235 As propriedades de barreira de um filme polimérico são fundamentais para  
1236 a estimativa da vida útil de um alimento em prateleira. A permeabilidade ao vapor  
1237 de água e ao oxigênio são duas das principais propriedades investigadas para  
1238 aplicação de filmes como embalagens de alimentos. Tanto o vapor de água quanto  
1239 o oxigênio podem ser transferidos do ambiente interno ou externo por intermédio da  
1240 embalagem, ocasionando mudanças na qualidade e propriedades dos alimentos.  
1241 Esse efeito está diretamente relacionado ao prazo de validade do alimento  
1242 embalado (CAZÓN, et al., 2017).

1243 Os resultados das medidas da TPVA E TPO<sub>2</sub> realizados com os filmes FA40  
1244 e FD15 estão apresentados na Tabela 3.

1245  
1246  
1247

**Tabela 3:** Resultados das taxas de permeabilidade ao vapor de água (TPVA) e gás oxigênio (TPO<sub>2</sub>) determinadas sobre os filmes FA40 e FD15.

Amostra	TPVA (g/m <sup>2</sup> dia)	TPO <sub>2</sub> (cm <sup>3</sup> /m <sup>2</sup> dia)
FA40	0,004	1,8
FD15	0,072	0,7

1248

1249 A presença de GLI (40%) na matriz polimérica ocasionou menor  
1250 permeabilidade ao vapor de água e maior permeabilidade do gás oxigênio. Esse  
1251 resultado ocorre devido ao caráter hidrofílico do GLI que dificulta a difusão das  
1252 moléculas de água (SARANTÓPOULOS, et al., 2002) através da matriz do filme  
1253 FA40. Por outro lado, devido a maior hidrofobicidade do filme FD15 que deve  
1254 interagir melhor com moléculas apolares do gás oxigênio. O filme FA40 apresenta  
1255 maior potencial para absorver água, uma vez que esse material se trata de um  
1256 hidrogel majoritariamente hidrofílico. Medidas de ângulo de contato confirmaram a  
1257 maior hidrofiliabilidade do filme FA40 (50° após 10 min de contato) em relação ao filme  
1258 FD15 (89° após 10 min de contato). Esse resultado explica a maior capacidade de  
1259 barreira ao vapor de água. O filme FD15 apresenta característica hidrofóbica.  
1260 Assim, ele possui melhor potencial de barreira sobre o gás oxigênio. No entanto,

1261 podemos afirmar que a taxa de permeabilidade TPVA e TPO<sub>2</sub> foram baixas para  
1262 ambas as amostras.

1263 O maior conteúdo de glicerol (40%) aumenta a TPO<sub>2</sub>, indicando que  
1264 concentrações elevadas de plastificante podem promover aumento da  
1265 permeabilidade de O<sub>2</sub>. Esse efeito pode estar relacionado à ação plastificante do  
1266 GLI que aumenta a mobilidade das cadeias poliméricas. Isso permite a difusão das  
1267 moléculas de oxigênio através do filme (LECETA, GUERRERO, CABA, 2013). O  
1268 maior resultado de TPO<sub>2</sub> do filme FA40 deve estar associado ao seu maior  
1269 alongamento até a ruptura ( $\varepsilon = 19\%$ ). Em relação ao filme FD15, sua baixa TPO<sub>2</sub>  
1270 em comparação ao filme FA40 deve estar associada à reorganização estrutural da  
1271 matriz do filme após a lavagem. De acordo com o XPS, a lavagem remove o GLI  
1272 superficial do filme FD15, tornando o mesmo mais resistente (55 MPa). Esse efeito  
1273 aumenta a hidrofobicidade do filme, promovendo uma melhor barreira as moléculas  
1274 do gás O<sub>2</sub>.

1275 Os filmes FA40 e FD15 apresentaram excelentes resultados de barreira  
1276 contra o vapor de água e gás oxigênio. Leceta e colaboradores (2013)  
1277 desenvolveram filmes puros de QT incorporados com 15 e 30% de GLI. As análises  
1278 de TPO<sub>2</sub> foram realizadas a  $23 \pm 2^\circ\text{C}$  a  $50 \pm 3\%$  de umidade relativa. Os resultados  
1279 de TPO<sub>2</sub> para os filmes de QT de baixa massa molar foram de  $6,65 \text{ cm}^3 \mu\text{m m}^{-2}$   
1280  $\text{day}^{-1} \text{kPa}^{-1}$  (filme puro),  $20,04 \text{ cm}^3 \mu\text{m m}^{-2} \text{day}^{-1} \text{kPa}^{-1}$  (filme com 15% de GLI) e  
1281  $37,38 \text{ cm}^3 \mu\text{m m}^{-2} \text{day}^{-1} \text{kPa}^{-1}$  (filme com 30% de GLI). Para os filmes de QT de alta  
1282 massa molar, os valores de TPO<sub>2</sub> foram de  $7,70 \text{ cm}^3 \mu\text{m m}^{-2} \text{day}^{-1} \text{kPa}^{-1}$  (filme puro),  
1283  $21,93 \text{ cm}^3 \mu\text{m m}^{-2} \text{day}^{-1} \text{kPa}^{-1}$  (filme com 15% de GLI) e  $38,17 \text{ cm}^3 \mu\text{m m}^{-2} \text{day}^{-1}$   
1284  $\text{kPa}^{-1}$  (filme com 30% de GLI). Estes resultados demonstraram o aumento da  
1285 permeabilidade dos filmes com o aumento da proporção de GLI que vieram de  
1286 encontro com os resultados apresentados nesse estudo (LECETA, GUERRERO,  
1287 CABA, 2013).

1288  
1289

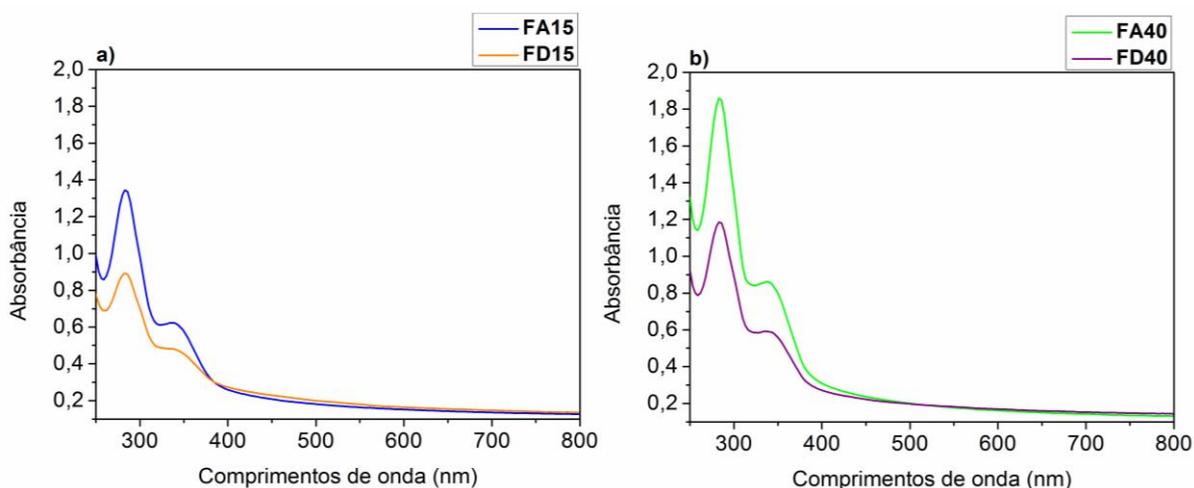
#### 4.10 PROPRIEDADE DE BARREIRA À LUZ

1290

1291 Propriedades de barreira à luz (radiação ultravioleta (UV)) consiste em um  
1292 parâmetro importante, pois esta é a responsável pela oxidação dos lipídios. A

1293 oxidação lipídica afeta as propriedades organolépticas dos alimentos, causando o  
 1294 surgimento de sabores e odores indesejáveis, reduzindo o tempo de prateleira dos  
 1295 alimentos embalados. Filmes com boas propriedades de barreira à luz UV, na região  
 1296 de (200 – 280 nm) podem auxiliar no retardamento da oxidação lipídica, fornecendo  
 1297 maior proteção ao alimento (CAZÓN, VÁZQUEZ, VELAZQUEZ, 2018; CAZÓN,  
 1298 VÁZQUEZ, VELAZQUEZ, 2019).

1299 A Fig. 16 ilustra os espectros de absorbância na faixa de radiação UV-Vis  
 1300 para as amostras FA40 e FD15.



1301

1302

**Figura 16.** Espectros UV-Vis dos filmes com 15% (a) e 40% (b) de GLI.

1303

1304 A propriedade de barreira à luz UV foi melhor para as amostras FA40 e  
 1305 FA15 em comparação as amostras FD40 e FD15. Isso se deve à remoção do  
 1306 excesso de GLI na amostra FD. Durante o processo de lavagem, o excesso de GLI  
 1307 é removido da matriz polimérica. Esse efeito está associado a uma diminuição da  
 1308 absorbância na região UV. Além disto, as espessuras dos filmes FD (FD15 = 0,028  
 1309 mm, FD40 = 0,029 mm) são menores em comparação aos filmes FA (FA15 = 0,038  
 1310 mm e FA40 = 0,045 mm). A amostra FA40 apresentou maior valor de absorbância  
 1311 na região UV (Fig. 16). O aumento da proporção de GLI (15 para 40%) promove  
 1312 maior efeito protetor contra a radiação UV. O aumento de GLI para 40% promove  
 1313 uma maior espessura no filme FA40. Esse efeito somado ao aumento da quantidade  
 1314 de GLI promove maior capacidade de absorção da luz UV (Fig. 16).

1315

1316 Além da propriedade de barreira à luz, a transparência de um material é um  
 fator importante na confecção de embalagens alimentícias. Este efeito proporciona

1317 um impacto direto na aceitabilidade do consumidor. Embalagens transparentes  
 1318 permitem ao consumidor analisar o produto com maior nitidez, avaliando sua  
 1319 qualidade visualmente (CÁZON, VÁZQUEZ, VELAZQUEZ, 2018).

1320 A propriedade de barreira à luz dos filmes, pode ser ratificada pelos valores  
 1321 de transparência apresentados na Tabela 4.

1322  
 1323

**Tabela 4:** Valores de transparência dos filmes FA15, FA40, FD15 e FD40.

<b>Amostra</b>	<b>Espessura média (mm)</b>	<b>Transparência (%.mm<sup>-1</sup>)</b>
<b>FA15</b>	0,038± 0,009	50,35
<b>FA40</b>	0,055 ± 0,014	34,80
<b>FD15</b>	0,028 ± 0,025	68,06
<b>FD40</b>	0,029 ± 0,008	63,64

1324

1325 Como esperado, os valores de transparência confirmaram os resultados  
 1326 obtidos no teste de barreira à luz. A amostra FA40 apresentou o menor valor (%) de  
 1327 transparência entre todas as amostras, indicando que este filme interage melhor  
 1328 com a luz. Este efeito deve estar relacionado ao aumento da espessura do filme. A  
 1329 espessura de um filme é um dos fatores responsáveis que deve ser ajustado afim  
 1330 de modular a transparência de materiais (ELSABEE, ABDON, 2013). Uma menor  
 1331 transparência está intimamente relacionada com elevadas espessuras (CÁZON,  
 1332 VÁZQUEZ, VELAZQUEZ, 2018). O filme FA40 (34,80%.mm<sup>-1</sup>) apresentou valor de  
 1333 transparência similar em relação ao filme de polipropileno (38,2%.mm<sup>-1</sup>) e acima de  
 1334 filme de polietileno de baixa densidade (15 – 20%) (LEE, SON, HONG, 2008).

1335 Altos valores de absorção de luz em filmes contendo GLI também foram  
 1336 reportado por Cazón e colaboradores (2019). Eles desenvolveram filmes a partir de  
 1337 celulose, glicerol e álcool polivinílico. Filmes contendo 5,0% de GLI apresentaram  
 1338 maior capacidade para absorver luz UV, promovendo um valor de absorbância  
 1339 máximo de 2,3. Os valores de transparência dos materiais foram de 38,56% (filme  
 1340 obtidos de uma mistura com composição 4,0% m/m de celulose, 5,0% m/m de GLI  
 1341 e 5,0% m/m de álcool polivinílico), 89,38% (filme obtido de uma mistura na

1342 composição 3,0% m/m de celulose, 5,0% m/m de GLI e 5,0% m/m de álcool  
1343 polivinílico) e 53,23% (filme obtido de uma mistura 3,0% m/m de celulose e 5,0%  
1344 m/m de álcool polivinílico). Os autores concluíram que a presença do GLI  
1345 proporcionou efeito protetor contra a radiação UV (CAZÓN, VELAZQUEZ,  
1346 VÁZQUEZ, 2019).

1347         Em comparação a outros materiais desenvolvidos para embalagens de  
1348 alimentos, os filmes deste trabalho apresentaram excelentes propriedades de  
1349 barreira à luz. Por exemplo, Tan e colaboradores (2014) desenvolveram filmes a  
1350 base de QT incorporados com diferentes proporções (0, 0,5, 1,0 e 1,5% m/m) de  
1351 extrato de sementes de toranja para utilização como embalagens de alimentos para  
1352 proteção de pães. Os filmes foram desenvolvidos pelo método casting. As  
1353 propriedades de barreira à luz e transparência dos filmes foram analisadas na faixa  
1354 de 220 a 880 nm. Os resultados de propriedade de barreira a luz evidenciaram altos  
1355 valores de transmitância (faixa de 58,84% a 93,14%) para os filmes com maior  
1356 proporção de extrato de sementes de toranja (1,5%). Esses resultados foram  
1357 comparados com os resultados de barreira à luz promovidos por filmes sintéticos,  
1358 tais como o polietileno de baixa densidade (86,9%), polipropileno orientado (89,1%),  
1359 poliéster (83,5%) e polivinil cloreto de vinildeno (90,0%). Os autores concluíram que  
1360 os filmes podem ser utilizados em embalagens alimentícias para preservar pães.  
1361 Por outro lado, é importante ressaltar que altos valores de transmitância (%), estão  
1362 relacionados a maior passagem de luz pelo material. Este efeito, pode ocasionar a  
1363 oxidação lipídica, diminuindo o tempo de vida útil do alimento (TAN, et al., 2014).

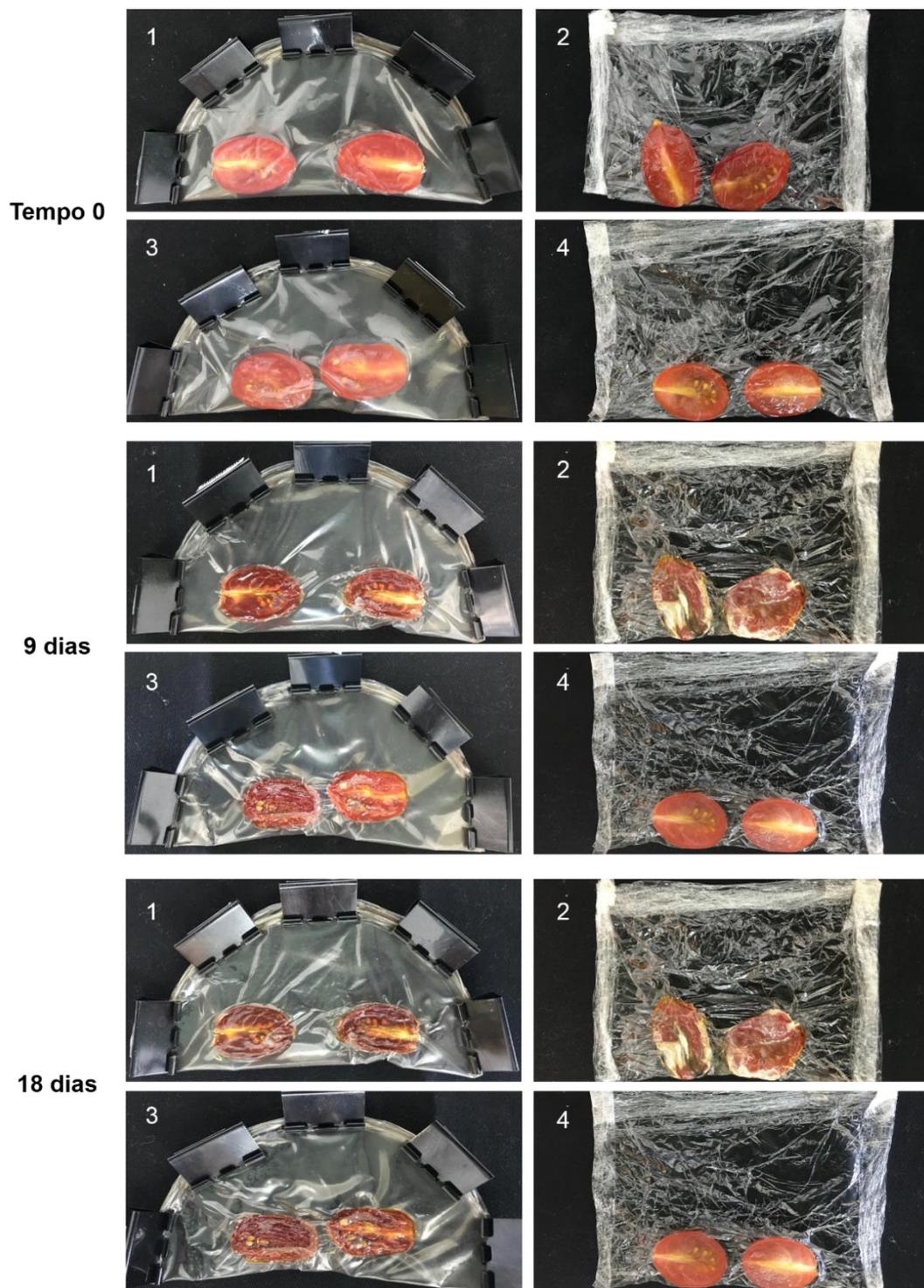
1364         Os resultados de propriedades de barreira à luz UV desse estudo foram  
1365 promissores, com destaque para as amostras FA. Os filmes proporcionaram a  
1366 formação de uma barreira protetora e os resultados de transparência foram  
1367 satisfatórios. Essas características podem proporcionar o desenvolvimento de  
1368 embalagens alimentícias. As mesmas devem promover visualização do alimento  
1369 embalado e bem como preservar as propriedades organolépticas do alimento por  
1370 um maior período.

1371  
1372

#### 4.11 EMBALAGEM DE ALIMENTOS

1373

1374 O filme FA40 foi utilizado como embalagem de alimentos, uma vez que  
1375 apresenta propriedades mecânicas adequadas, propriedades antimicrobianas,  
1376 citocompatibilidade e propriedades de barreira contra água, oxigênio e luz. O  
1377 potencial para embalagens alimentícias dos filmes FA40 e PVC foram avaliados  
1378 utilizando tomates-cerejas. As alterações estruturais dos tomates-cerejas  
1379 embalados com quatro conjuntos de embalagens: (1) filme FA40 acondicionado fora  
1380 da geladeira (temperatura ambiente); (2) filme PVC acondicionado fora da geladeira  
1381 (temperatura ambiente); (3) filme FA40 armazenado dentro da geladeira; (4) filme  
1382 PVC armazenado dentro da geladeira. O estudo foi realizado durante 18 dias de  
1383 armazenamento. Imagens digitais são apresentadas na Fig. 17.  
1384



1385  
1386  
1387  
1388  
1389

**Figura 17.** Imagens digitais de tomates-cerejas embalados com os filmes FA40 e PVC depois de 0, 9 e 18 dias. Amostra 1 = filme FA40 acondicionado fora da geladeira (temperatura ambiente); Amostra 2 = filme PVC acondicionado fora da geladeira (temperatura ambiente).

1390 No tempo 0, todos os tomates apresentaram coloração avermelhada e  
1391 textura lisa. No 1º dia, as primeiras modificações estruturais nos tomates-cereja  
1392 foram visualizadas na embalagem (2), pois a região da columela apresentou-se

1393 mais escurecida. Esta mudança de coloração, pode indicar a baixa eficiência do  
1394 PVC em armazenar produtos fora da geladeira. As outras três embalagens  
1395 mantiveram os aspectos estruturais dos tomates-cerejas.

1396 No 9º dia, a aparência física dos tomates-cerejas das embalagens (1), (2) e  
1397 (3) apresentou diferenças estruturais evidentes. Os tomates-cerejas das  
1398 embalagens (1) e (3) estavam levemente secos, com superfície enrugada, devido à  
1399 perda de água para a matriz do filme (Fig. 17) Entretanto, sua coloração  
1400 avermelhada e a ausência de microrganismos causadores de deterioração,  
1401 confirmaram que o filme FA40 preservou o fruto. Na embalagem (2), observou-se  
1402 regiões esbranquiçadas no feixe vascular e columela dos tomates-cereja,  
1403 evidenciando o apodrecimento do alimento. A embalagem (4) não foi observada  
1404 mudanças nas características estruturais dos tomates-cerejas. O armazenamento  
1405 na geladeira prolonga o tempo de vida útil do fruto (Fig. 17).

1406 Após 18 dias de análise, os tomates-cerejas das embalagens (1) e (3)  
1407 mantiveram sua coloração e preservação de suas propriedades. A absorção de  
1408 água pelo filme, promoveu aos mesmos textura enrugada, deixando-os  
1409 desidratados. Entretanto, neste período, não foi observado a presença  
1410 microrganismos sobre o fruto. Nos tomates-cerejas das embalagens (2) e (4)  
1411 observou-se a proliferação de microrganismos deterioradores, sendo mais evidente  
1412 na embalagem (2). Esse efeito promoveu o apodrecimento do alimento. Na  
1413 embalagem (4) a presença de microrganismos aconteceu após 18 dias.

1414 Outros filmes a base de polissacarídeos também foram utilizados em testes  
1415 como embalagens alimentícias para proteção de tomates-cerejas. Kaewklin e  
1416 colaboradores (2018) desenvolveram filmes de nanocompósitos de QT  
1417 incorporados com nanopartículas de dióxido de titânio (21 nm) e também filmes  
1418 puros de QT para embalagens de tomates. Para o preparo dos filmes, a QT foi  
1419 dissolvida em ácido acético 1% (vol/vol) e GLI (30% m/m) foi incorporado a solução  
1420 de QT (2,0% m/v). A aplicação do teste em tomates decorreu em três tipos de  
1421 embalagens: (1) filme nanocompósito de QT/dióxido de titânio, (2) filme de QT puro  
1422 e (3) embalagem de polietileno de baixa densidade (controle). Todas as amostras  
1423 foram armazenadas em uma câmara de temperatura e umidade constante a 20 °C  
1424 e 85% de umidade relativa (UR) e irradiados com luz UV. A qualidade dos tomates  
1425 foi avaliada duas vezes por semana. Os resultados demonstraram que filmes

1426 contendo dióxido de titânio apresentaram os melhores resultados, devido à sua  
1427 propriedade de fotodegradação (KAEWKLIN, et al., 2018).

1428 Durante o período analisado, a eficiência das embalagens confeccionadas  
1429 pelos filmes de PT/QT/GLI foi excelente em comparação as embalagens de PVC.  
1430 As características observadas nesta análise estão de acordo com os resultados de  
1431 teste de adesão inicial de bactérias e a atividade antimicrobiana. Acredita-se que os  
1432 filme FA40 seja promissor para utilização como embalagens para alimentos. Esse  
1433 filme proporciona proteção contra microrganismos deterioradores, promovendo a  
1434 preservação das propriedades organolépticas. Certamente, o filme FA40 pode  
1435 aumentar o tempo de vida útil de alimentos em prateleira quando comparado à  
1436 filmes convencionais. Destacamos que não há necessidade de realizar a etapa de  
1437 lavagem do filme FA40, otimizando o tempo de produção do mesmo. Além disso, a  
1438 eficácia do filme FA40 como embalagem alimentícia comprova a utilização deste  
1439 material sem .

1440  
1441

## 5 CONCLUSÃO

1442

1443 O preparo de filmes de PT/QT incorporados com diferentes conteúdos de  
1444 glicerol foram obtidos neste estudo. A modificação do teor inicial de glicerol na  
1445 blenda de PT/QT proporcionou a formação de filmes resistentes e flexíveis. A  
1446 incorporação do glicerol favoreceu o aumento efetivo da resistência a tração das  
1447 amostras lavadas. Não há relatos na literatura sobre filmes com excesso de PT na  
1448 matriz polimérica com resultados promissores de propriedades mecânicas como  
1449 obtidos neste trabalho. Além disso, os filmes desenvolvidos são isentos de agentes  
1450 reticulantes, agentes tóxicos e materiais sintéticos, consistindo em um material de  
1451 baixa citotoxicidade. Foram obtidos filmes não lavados e lavados com superfície lisa  
1452 e homogênea. Os espectros de XPS demonstraram provavelmente a presença de  
1453 sinais característicos da PT e QT e, também do GLI. Medidas de ângulo de contato  
1454 confirmaram alteração significativa da molhabilidade da superfície dos filmes. As  
1455 amostras lavadas são mais hidrofóbicas em relação as amostras não lavadas. Esse  
1456 efeito se deve a presença de GLI na superfície dos filmes não lavados. A lavagem  
1457 dos filmes aumenta a efetividade de interação entre os componentes da matriz. Isso  
1458 explica porque os filmes apresentam maior resistência à tração depois de lavados.

1459 Os filmes FA não apresentaram citotoxicidade. Esta característica contribuiu para  
1460 que o filme FA40 apresente atividade antimicrobiana e antiadesiva contra bactérias  
1461 *E. Coli*. Os testes de propriedade de barreira evidenciaram a proteção dos filmes  
1462 contra água, oxigênio e luz. Sendo assim, o filme FA40 pode manter as  
1463 propriedades organolépticas dos alimentos por um maior tempo de prateleira.  
1464 Aplicando este material como embalagem em tomates-cerejas, o filme FA40  
1465 manteve a integridade física e conservou o fruto. A eficácia do filme FA40 na  
1466 proteção de tomates-cerejas, comprovou que os filmes não necessitam ser  
1467 submetidos ao processo de lavagem. A retirada desta etapa proporciona a  
1468 otimização da produção dos materiais, evitando a utilização de água durante o  
1469 processo. O conjunto de resultados deste estudo confirma o potencial do filme FA40  
1470 em atuar como embalagem para fins alimentícios.

1471 Futuramente, a utilização deste material como embalagem para alimentos  
1472 poderá auxiliar na despoluição do meio ambiente substituindo embalagens  
1473 sintéticas, reduzindo o acúmulo de lixo e a conservação do meio ambiente.

1474

1475  
1476

## REFERÊNCIAS

1477

1478 ABDULLAH, Z. W.; DONG, Y. Biodegradable and Water Resistant  
1479 Poly(vinyl) Alcohol (PVA)/Starch (ST)/Glycerol (GL)/Hallosite Nanotube (HNT)  
1480 Nanocomposite Films for Sustainable Food Packaging. **Frontiers in Materials**, v. 6,  
1481 p. 1-17, 2019.

1482

1483 ADILAH, Z. A. M.; JAMILAH, B.; HANANI, Z. A. N. Functional and  
1484 antioxidant properties of protein-based films incorporated with mango kernel extract  
1485 for active packaging. **Food Hydrocolloids**, v. 74, p.207-218, 2018.

1486

1487 AHMED, E. M. Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A  
1488 review. **Journal of Advanced Research**, v. 6, p. 105-121, 2015.

1489

1490 ANSORENA, M. R.; MARCOVICH, N. E.; PEREDA, M. Food Biopackaging  
1491 Based on Chitosan. **Research Gate**, p. 1-27, 2017.

- 1492  
1493 AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). In Annual  
1494 Book of ASTM Standards; ASTM: Philadelphia, PA, 2002.  
1495  
1496 AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). ASTM  
1497 F1249-90, **Standard Test Method for Water Vapor Transmission Rate Through**  
1498 **Plastic Film and Sheeting Using a Modulated Infrared Sensor**. West  
1499 Conshohocken, 2001.  
1500  
1501 AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). ASTM  
1502 D3985-02, **Standard Test Method for Oxygen Gas Transmission Rate Through**  
1503 **Plastic Film and Sheeting Using a Coulometric Sensor**. West Conshohocken,  
1504 2001.  
1505  
1506 ANVISA. Resolução da Agência Nacional de Vigilância Sanitária 91/2001.  
1507 **Diário Oficial da União**, p. 27, 2001.  
1508  
1509 AZIZ, M. S. A.; SALAMA, H. E.; SABAA, M. W. Biobased alginate/castor oil  
1510 edible films for active food packaging. **LWT – Food Science and Technology**, v.  
1511 96, p. 455-460, 2018.  
1512  
1513 BANDYOPADHYAY, S.; SAHA, N.; BRODNJAK, U. V.; SÁHA, P. Bacterial  
1514 cellulose and guar gum based modified PVP–CMC hydrogel films: Characterized for  
1515 packaging fresh berries. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 22, p. 1-9, 2019.  
1516  
1517 BARON, R. D.; PÉREZ, L. L.; SALCEDO, J. M.; CÓRDOBA, L. P.; SOBRAL,  
1518 P. J. A. Production and characterization of films based on blends of chitosan from  
1519 blue crab (*Callinectes sapidus*) waste and pectin from Orange (*Citrus sinensis*  
1520 *Osbeck*) peel. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 98, p. 676-  
1521 683, 2017.  
1522  
1523 BATISTA, R. A.; ESPITIA, P. J. P.; QUINTANS, J. S. S.; FREITAS, M. M.;  
1524 CERQUEIRA, M. A.; TEIXEIRA, J. A.; CARDOSO, J. C. Hydrogel as an alternative

1525 structure for food packaging systems. **Carbohydrate Polymers**, v. 205, p. 106-116,  
1526 2019.

1527

1528 BIERHALZ, A. C. K.; SILVA, M. A.; KIECKBUSCH, T. G. Natamycin release  
1529 from alginate/pectin films for food packaging applications. **Journal of Food**  
1530 **Engineering**, v. 110, p. 18-25, 2012.

1531

1532 BRIASSOULIS, D.; GIANNOULIS, A. Evaluation of the functionality of bio-  
1533 based food packaging films. **Polymer Testing**, v. 69, p.39-51, 2018.

1534

1535 BUENO, P. V. A.; SOUZA, P. R.; FOLLMANN, H. D. M.; PEREIRA, A. G. B.;  
1536 MARTINS, A. F.; RUBIRA, A. F.; MUNIZ, E. C. N,N-Dimethyl chitosan/heparin  
1537 polyelectrolyte complex vehicle for efficient heparin delivery. **International Journal**  
1538 **of Biological Macromolecules**, v. 75, p. 186-191, 2015.

1539

1540 CÂMARA, P. C. F.; BALABAN, R. C.; HEDAYATI, M.; POPAT, K. C.;  
1541 MARTINS, A. F.; KIPPER, M. J. Novel cationic tannin/glycosaminoglycan-based  
1542 polyelectrolyte multilayers promote stem cells adhesion of proliferation. **Royal**  
1543 **Society of Chemistry**, v. 9, p. 25836-25846, 2019.

1544

1545 CAZÓN, P.; VÁZQUEZ, M.; VELAZQUEZ, G. Cellulose-glycerol-polyvinyl  
1546 alcohol composite films for food packaging: Evaluation of water adsorption,  
1547 mechanical properties, light-barrier properties and transparency. **Carbohydrate**  
1548 **Polymers**, v. 195, p. 432-443, 2018.

1549

1550 CÁZON, P.; VELAZQUEZ, G.; RAMÍRES, J. A.; VÁZQUEZ M.  
1551 Polysaccharide-bases films and coatings for food packaging: A review. **Food**  
1552 **Hydrocolloids**, v. 68, p. 136-148, 2017.

1553

1554 CAZÓN, P.; VELAZQUEZ, G.; VÁZQUEZ, M. Novel composite films from  
1555 regenerated cellulose-glycerol-polyvinyl alcohol: Mechanical and barrier properties.  
1556 **Food Hydrocolloids**, v. 89, p. 481-491, 2019.

- 1557 CHEN, P-H.; KUO, T-Y.; KUO, J-W.; TSENG, Y-P.; WANG, D-M.; LAI, J-Y.;  
1558 HSIEH, H-J. Novel chitosan-pectin composite membranes with enhanced strength,  
1559 hydrophilicity and controllable disintegration. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, p.  
1560 1236-1242, 2010.
- 1561
- 1562 CIANNAMEA, E.; CASTILLO, L. A.; BARBOSA, S. E.; ANGELIS., M. G. D.  
1563 Barrier properties and mechanical strength of bio-renewable, heat-sealable films  
1564 based on gelatin, glycerol and soybean oil for sustainable food packaging.  
1565 **Reactive and Functional Polymers**, v. 125, p. 29-36, 2018.
- 1566
- 1567 DA CRUZ, J. A.; SILVA, A. B.; RAMIN, B. B. S.; SOUZA, P. R.; POPAT, K.  
1568 C.; ZOLA, R. S.; KIPPER, M. J.; MARTINS, A. F. Poly (vinyl alcohol)/ cationic tannin  
1569 blends films with antioxidant and antimicrobial activities. **Materials Science &**  
1570 **Engineering C**, v. 107, p. 1-13, 2020.
- 1571
- 1572 DICK, M.; COSTA, T. M. H.; GOMAA, A.; SUBIRADE, M.; RIOS, A. O.;  
1573 FLÔRES, S. H. Edible film production from chia seed mucilage: Effect of glycerol  
1574 concentration on its physicochemical and mechanical properties. **Carbohydrate**  
1575 **Polymers**, v. 130, p. 198-205, 2015.
- 1576
- 1577 DILKES-HOFFMANN, L. S.; LANE, J. L.; GRANT, T.; PRATT, S.; LANT, P.  
1578 A.; LAYCOCK, B. Environmental impact of biodegradable food packaging when  
1579 considering food waste. **Journal of Cleaner Production**, v. 180, p. 325-334, 2018.
- 1580
- 1581 DOMÍNGUEZ, R.; BARBA, F. J.; GÓMEZ, B.; PUTNIK, P.; KOVAČEVIĆ, D.  
1582 B.; PATEIRO, M.; SANTOS, E. M.; LORENZO, J. M. Active packaging films with  
1583 natural antioxidants to be used in meat industry: A review. **Food Research**  
1584 **International**, v. 113, p. 93-101, 2018.
- 1585
- 1586 DUAN, C.; MENG, X.; MENG, J.; KHAN, M. I. H.; DAI, L.; KHAN, A.; AN, X.;  
1587 ZHANG, J.; HUQ, T.; NI, Y. Chitosan as A Preservative for Fruits and Vegetables: A  
1588 Review on Chemistry and Antimicrobial Properties. **Journal of Bioresources and**  
1589 **Bioproducts**, v. 4, n. 1, p. 11-21, 2018.

1590 ELSABEE, M. Z.; ABDOU, E. S. Chitosan based edible films and coatings:  
1591 A review. **Materials Science and Engineering C**, v. 33, p. 1819-1841, 2013.

1592

1593 FACCHI, D. P.; CAZETTA, A. L.; CANESIN, E. A.; ALMEIDA, V. C.;  
1594 BONAFÉ, E. G.; KIPPER, M. J.; MARTNS, A. F. New magnetic  
1595 chitosan/alginate/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@SiO<sub>2</sub> hydrogel composites applied for removal of Pb(II)  
1596 ions from aqueous systems. **Chemical Engineering Journal**, v. 337, p. 595-608,  
1597 2018.

1598

1599 FACCHI, D. P.; CRUZ, J. A.; BONAFÉ, E. G.; PEREIRA, A. G. B.;  
1600 FAJARDO, A. R.; VENTER, S. A. S.; MONTEIRO, J. P.; MUNIZ, E. C.; MARTINS,  
1601 A. F. Polysaccharide-based Materials Associated with or Coordinated to Gold  
1602 Nanoparticles: Synthesis and Medical Application. **Current Medical Chemistry**, v.  
1603 24, p. 1-35, 2017.

1604

1605 FACCHI, D. P.; FACCHI, S. P.; MARTINS, A. F. N,N,N- Trimethyl Chitosan  
1606 and Its Potential Bactericidal Activity: Current Aspects and Technological  
1607 Applications. **Journal of Infectious Diseases and Therapy**, v. 4, n. 4, p. 1-4, 2016.

1608

1609 FARHAN, A.; HANI, N. M. Characterization of edible packaging films based  
1610 on semi-refined kappa-carrageenan plasticized with glycerol and sorbitol. **Food**  
1611 **Hydrocolloids**, v. 64, p. 48-58, 2017.

1612

1613 FERREIRA, A. R. V.; ALVES, V. D.; COELHO, I. M. Polysaccharide-  
1614 Based Membranes in Food Packaging Applications. **Membranes**, v. 6, p. 1-17,  
1615 2016.

1616

1617 FOLLMANN, H. D. M.; MARTINS, A. F.; NOBRE, T. M.; BRESOLIN, J. D.;  
1618 CELLET, T. S. P.; VALDERRAMA, P.; CORREA, D. S.; MUNIZ, E. C.; JUNIOR-  
1619 OLIVEIRA, O. N. Extent of shielding by counter-ions determines the bactericidal  
1620 activity of N,N,N-trimethyl chitosan salts. **Carbohydrate Polymers**, v. 137, p. 418-  
1621 425, 2015.

1622 GARCIA, C. V.; SHIN, G. H.; KIM, J. T. Metal oxide-based nanocomposites  
1623 in food packaging: Applications, migration, and regulations. **Trends in Food**  
1624 **Science & Technology**, v. 82, p. 21-31, 2018.

1625

1626 GONÇALVES, S. M.; SANTOS, D. C.; MOTTA, J. F. G.; SANTOS, R. R.;  
1627 CHÁVEZ, D. W. H.; MELO, N. R. Structure and functional properties of cellulose  
1628 acetate films incorporated with glycerol. **Carbohydrate Polymers**, v. 209, p. 190-  
1629 197, 2019.

1630

1631 GORRASI, G.; BUGATTI, V.; VITTORIA, V. Pectins filled with LDH-  
1632 antimicrobial molecules: Preparation, characterization and physical properties.  
1633 **Carbohydrate Polymers**, v. 89, n. 1, p. 132-137, 2012.

1634

1635 HAN, J-W.; RUIZ-GARCIA, L.; QIAN, J-P.; YANG, X-T. Food Packaging: A  
1636 Comprehensive Review and Future Trends. **Comprehensive Reviews in Food**  
1637 **Science and Food Safety**, v. 17, p. 860-877, 2018.

1638

1639 HAN, J. W. **Innovations in Food Packaging**. 2<sup>a</sup> ed. Plano: Academic  
1640 Press, 2014. 624 p.

1641

1642 HANANI, Z. A. N. Chapter 6 – Surface Properties of Biodegradable  
1643 Polymers for Food Packaging. **Polymers for Food Applications**. 1<sup>a</sup> ed., p. 131-147,  
1644 Springer, 2018.

1645

1646 HARVEY, R. A.; FERRIER, D. R. **Bioquímica ilustrada**. 5<sup>a</sup> ed. Porto  
1647 Alegre: Artmed, 2012. 520 p.

1648

1649 JAHED, E.; KHALEDABAD, M. A.; BARI, M. R.; ALMASI, H. Effect of  
1650 cellulose and lignocellulose nanofibers on the properties of *Origanum vulgare* ssp.  
1651 *gracile* essential oil-loaded chitosan films. **Reactive and Functional Polymers**, v.  
1652 117, p. 70-80, 2017.

1653

1654 JANCY, S.; SHRUTHY, R.; PREETHA, R. Fabrication of packaging film  
1655 reinforced with cellulose nanoparticles synthesized from jack fruit non-edible part  
1656 using response surface methodology. **International Journal of Biological**  
1657 **Macromolecules**, v. 142, p. 63-72, 2020.

1658

1659 JEON, S. J.; OH, M.; YEO, W-S, GALVÃO, K. N.; JEONG, K. C. Underlying  
1660 Mechanism of Antimicrobial Activity of Chitosan Microparticles and Implications for  
1661 the Treatment of Infectious Diseases. **PLOS ONE**, v. 9, n. 3, 1-10, 2014.

1662

1663 JOUKI, M.; KHAZAEI, N.; GHASEMLOU, M.; HADINEZHAD, M. Effect of  
1664 glycerol concentration on edible film production from cress seed carbohydrate gum.  
1665 **Carbohydrate Polymers**, v. 96, p. 39-46, 2013.

1666

1667 KAEWKLIN, P.; SIRIPATRAWAN, U.; SUWANAGUL, A.; LEE, Y. S. Active  
1668 packaging from chitosan-titanium dioxide nanocomposite film for prolonging storage  
1669 life of tomato fruit. **Biological Macromolecules**, v. 112, p. 523-529, 2018.

1670

1671 KHANEGHAH A. M.; HASHEMI, S. M. B.; LIMBO, S. Antimicrobial agents  
1672 and packaging systems in antimicrobial active food packaging: An overview of  
1673 approaches and interactions. **Food and Bioproducts Processing**, v. 111, p. 1-19,  
1674 2018.

1675

1676 KIM, H-S.; YANG, J.; KIM, K.; SHIN, U. S. Biodegradable and injectable  
1677 hydrogels as an immunosuppressive drug delivery system. **Materials Science and**  
1678 **Engineering C**, v. 98, p. 472-481, 2019.

1679

1680

1681 KNIDRI, H. E.; BELAABED, R.; ADDAOU, A.; LAAJEB, A.; LAHSINI, A.  
1682 Extraction, chemical modification and characterization of chitin and chitosan.  
1683 **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 120, p. 1181-1189, 2018.

1684

1685 KOWALONEK, J. Studies of chitosan/pectin complexes exposed to UV  
1686 radiation. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 103, p. 515-  
1687 524, 2017.

1688

1689 KUMAR, R.; GHOSHAL, G.; GOYAL, M. Synthesis and functional properties  
1690 of gelatin/CA-starch composite film: excellent food packaging material. **Journal of**  
1691 **Food Science and Technology**, v. 56, p. 1954-1965, 2019.

1692

1693 KUSWANDI, B.; MORADI, M. Chapter 16 – **Improvement of Food**  
1694 **Packaging Based on Functional Nanomaterial**. 1<sup>a</sup> ed. Cham: Springer, 2019. 439  
1695 p.

1696 LAVORGNA, M.; PISTICELLI, F.; MANGIACAPRA, P.; BUONOCORE, G.  
1697 G. Study of the combined effect of both clay and glycerol plasticizer on the properties  
1698 of chitosan films. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, p. 291-298, 2010.

1699

1700

1701 LECETA, I.; GUERRERO, P.; DE LA KABA, K. Functional properties of  
1702 chitosan based-films. **Carbohydrate Polymers**, v. 93, p. 339-346, 2013.

1703

1704 LECETA, I.; GUERRERO, P.; IBARBURU, I.; DUEÑAS, M. T.; DE LA KABA,  
1705 K. Characterization and antimicrobial analysis of chitosan-based films. **Journal of**  
1706 **Food Engineering**, v. 116, p. 889-899, 2013.

1707

1708 LEE, J-W.; SON, S-M.; HONG, S-I. Characterization of protein-coated  
1709 polypropylene films as a novel composite structure for active food packaging  
1710 application. **Journal of Food Engineering**, v. 86, p. 484-493, 2008.

1711

1712 LI, M.; TIAN, X.; JIN, R.; LI, D. Preparation and characterization of  
1713 nanocomposite films containing starch and cellulose nanofibers. **Industrial Crops**  
1714 **& Products**, v. 123, p. 654-660, 2018.

1715

1716 LICARDELLO, F. Packaging, blessing in disguise. Review on its diverse  
1717 contribution to food sustainability. **Trends in Food Science & Technology**, v. 65,  
1718 p. 32-39, 2017.

1719

1720 LOZANO-NAVARRO, J. I.; DÍAZ-ZAVALA, N. P.; VELASCO-SANTOS, C.  
1721 MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, A. L.; TIJERINA-RAMOS, B. I.; GARCÍA-HERNANDEZ,  
1722 M.; RIVERA-ARMENTA, J. L.; PÁRAMO-GARCÍA, U.; REYES-DE LA TORRE, A. I.  
1723 Antimicrobial, Optical and Mechanical Properties of Chitosan-Starch Films with  
1724 Natural Extracts. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, p. 997-1015,  
1725 2017.

1726

1727 LU, X.; CHEN, J.; GUO, Z.; ZHENG, Y.; REA, M. C.; SU, H.; ZHENG, X.;  
1728 ZHENG, B.; MIAO, S. Using polysaccharides for the enhancement of functionality of  
1729 foods: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 86, p. 311-327, 2019.

1730

1731 LUO, Y.; WANG, Q. Recent development of chitosan-based polyelectrolyte  
1732 complexes with natural polysaccharides for drug delivery. **International Journal of**  
1733 **Biological Macromolecules**, v. 64, p. 353-367, 2014.

1734

1735 MACIEL, V. B. V.; YOSHIDA, C. M. P.; FRANCO, T. T. Chitosan/pectin  
1736 polyelectrolyte complex as a pH indicator. **Carbohydrate Polymers**, v. 132, p. 537-  
1737 545, 2015.

1738

1739 MAHINROOSTA, M.; FARSANGI, Z. J.; ALLAHVERDI, A.; SHAKOORI, Z.  
1740 Hydrogels as intelligent materials: A brief review of synthesis, properties and  
1741 applications. **Materials Today Chemistry**, v. 8, p. 42-55, 2018.

1742

1743 MARTÍNEZ-CAMACHO, A. P.; CORTEZ-ROCHA, M. O.; EZQUERRA-  
1744 BRAUER, J.M.; GRACIANO-VERDUGO, A. Z.; RODRIGUEZ-FÉLIX, F.;  
1745 CASTILLO-ORTEGA, M. M.; YÉPIZ- GÓMEZ, M. S.; PLASCENCIA-JATOMEA, M.  
1746 Chitosan composite films: Thermal, structural, mechanical and antifungal properties.  
1747 **Carbohydrate Polymers**, v. 82, p. 305-315, 2010.

1748 MARTINS, A. F.; FACCHI, S. P.; FOLLMANN, H. D. M.; PEREIRA, A. G. B.;  
1749 RUBIRA, A. F.; MUNIZ, E. C. Antimicrobial activity of chitosan derivatives containing  
1750 N-quaternized moieties in its backbone: a review. **International Journal of**  
1751 **Molecular Sciences**, v. 15, p. 20800-20832, 2014.

1752

1753 MARTINS, A. F.; VLCEK, J.; WIGMOSTA, T.; HEDAYATL, M.; REYNOLDS,  
1754 M. M.; POPAT, K. C.; KIPPER, M. J. Chitosan/iota carrageenan and chitosan/pectin  
1755 polyelectrolyte multilayer scaffolds with antiadhesive and bactericidal properties.  
1756 **Applied Surface**, v. 502, p. 1-11, 2020.

1757

1758 MARTINS, J. G.; CAMARGO, S. E. A.; BISHOP, T. T.; POPAT, K. C.;  
1759 KIPPER, M. J.; MARTINS, A. F. Pectin-chitosan membrane scaffold imparts  
1760 controlled stem cell adhesion and proliferation. **Carbohydrate Polymers**, v. 197, p.  
1761 47-56, 2018a.

1762

1763 MARTINS, J. G.; OLIVEIRA, A. C.; GARCIA, P. S.; KIPPER, M. J.;  
1764 MARTINS, A. F. Durable pectin/chitosan membranes with self-assembling, water  
1765 resistance and enhanced mechanical properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 188,  
1766 p. 136-142, 2018b.

1767

1768 MIX, S.; BUFFER, A.; SOLUTION, S.; MIX, S.; BUFFER, A.; SOLUTION, S.  
1769 **Pierce LDH Cytotoxicity Assay Kit 88953**, 747 (n.d.).

1770

1771 MOSTAFA, A. A.; AL-ASKAR, A. A.; ALMAARY, K. S.; DAWOUD, T. M.;  
1772 SHOLKAMY, E. N. Antimicrobial activity of some plant extracts against bacterial  
1773 strains causing food poisoning diseases. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v.  
1774 25, p. 361-366, 2018.

1775

1776 NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. 6<sup>a</sup>  
1777 ed. Porto Alegre: Artmed, 2016. 1298 p.

1778

1779 NESIC, A. R.; SESLIJA, S. I. The Influence of Nanofillers on Physical-  
1780 Chemical Properties of Polysaccharide-Based Film Intended for Food Packaging.  
1781 **Food Packaging**, v. 19, p. 637-697, 2017.

1782

1783 NGOUÉMAZONG, E. D.; CHRISTIAENS, S.; SHPIGELMAN, A.; LOEY, A.  
1784 V., HENDRICKX, M. The emulsifying and emulsion-stabilizing properties of pectin:  
1785 a review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 14, p.  
1786 705-718, 2015.

1787

1788 NORCINO, L. B.; OLIVEIRA, J. E.; MOREIRA, F. K. V.; MARCONCINI, J.  
1789 M.; MATTOSO, L. H. C. Rheological and thermo-mechanical evaluation of bio-based  
1790 chitosan/pectin blends with tunable ionic cross-linking. **International Journal of**  
1791 **Biological Macromolecules**, v. 118, p. 1817-1823, 2018.

1792

1793 NISAR, T.; WANG, Z-C.; YANG, X.; TIAN, Y.; IQBAL, M.; GUO, Y.  
1794 Characterization of citrus pectin films integrated with clove bud essential oil:  
1795 Physical, thermal, barrier, antioxidant and antimicrobial properties. **International**  
1796 **Journal of Biological Macromolecules**, v. 106, p. 670-680, 2017.

1797

1798 OLIVEIRA, A. C.; VILSINSKI, B. H.; BONAFÉ, E. G.; MONTEIRO, J. P.;  
1799 KIPPER, M. J.; MARTINS, A. F. Chitosan content modulates durability and structural  
1800 homogeneity of chitosan-gellan gum assemblies. **International Journal of**  
1801 **Biological Macromolecules**, v. 128, p. 114-123, 2019.

1802

1803 OLIVEIRA, A. C.; SABINO, R. M.; SOUZA, P. R.; MUNIZ, E. C.; POPAT, K.  
1804 C.; KIPPER, M. J.; ZOLA, R. S.; MARTINS, A. F. Chitosan/gellan gum ratio contente  
1805 into blends modulates the scaffolding capacity of hydrogels on bone mesenchymal  
1806 stem cells. **Materials Science & Engineering C**, v. 106, p. 1-9, 2020.

1807

1808 ORSUWAN, A.; SOTHORNVIT, R. Polysaccharide Nanobased Packaging  
1809 Materials for Food Application. **Food Packaging and Preservation**, v. 7, p. 239-  
1810 270, 2018.

1811 OZTURK, B.; McCLEMENTS, D. J. Progress in natural emulsifiers for  
1812 utilization in food emulsions. **Current Opinion in Food Science**, v. 7, p. 1-6, 2016.

1813

1814 PANDELE, A. M.; IONITA, M.; CRICA, L.; DINESCU, S.; COSTACHE, M.;  
1815 IOVU, H. Syntesis, characterization, and *in vitro* studies of grapheme  
1816 oxide/chitosan-polyvinyl alcohol films. **Carbohydrate Polymers**, v. 102, p. 813-820,  
1817 2014.

1818

1819 **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing;**  
1820 **Twenty-Second Informational Supplement.** Clinical and Laboratory Standards  
1821 Institute, vol. 32, n. 3, M100-S22, p. 188.

1822

1823 PRIYADARSHI, R.; SAURAJ, KUMAR, B.; NEGI, Y. S. Chitosan film  
1824 incorporated with citric acid and glycerol as an active packaging material for  
1825 extension of green chilli shelf life. **Carbohydrate Polymers**, v. 195, p. 329-338,  
1826 2018.

1827

1828 QIN, Y.; JIANG, J.; ZHAO, L.; ZHANG, J.; WANG, F. Chapter 13 -  
1829 Applications of alginate as a functional food ingredient. **Biopolymers for Food**  
1830 **Design**, 409-429.

1831

1832 RAMBABU, K.; BHARATH, G.; BANAT, F.; SHOW, P. L.; COCOLETZI, H.  
1833 H. Mango leaf extract incorporated chitosan antioxidant film for active food  
1834 packaging. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 126, p. 1234-  
1835 1243, 2019.

1836

1837 RAMIN, B. B. S.; RUFATO, K. B.; SABINO, R. M.; POPAT, K. C.; KIPPER,  
1838 M. J.; MARTINS, A. F.; MUNIZ, E. C. Chitosan/*iota*-carrageenan/curcumin-based  
1839 materials performed by precipitating miscible solutions prepared in ionic liquid.  
1840 **Journal of Molecular Liquids**, v. 290, p. 1-10, 2019.

1841

1842 RIAZ, A.; LEI, S.; AKHTAR, H. M. S.; WAN, P.; CHEN, D.; JABBAR, S.;  
1843 ABID, M.; HASHIM, M. M.; ZENG, X. Preparation and characterization of chitosan-

1844 based antimicrobial active food packaging film incorporated with apple peel  
1845 polyphenols. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 114, p. 547-  
1846 555, 2018.

1847

1848 RITCHIE, H.; ROSER, M. Plastic Pollution. **OUR WORLD IN DATA**, 2018.

1849 Disponível em: <https://ourworldindata.org/plastic-pollution>. Acesso em: 17 jan. 2019.

1850

1851 ROCHA, M.; SOUZA, M. M.; PRENTICE, C. Biodegradable Films: An  
1852 Alternative Food Packaging. **Food Packaging and Preservation**, v. 9, p. 307-342,  
1853 2018.

1854

1855 ROMERO, R.; CHUBB, L.; TRAVERS, J. K.; GONZALES, T. R.; EHRHART,  
1856 N. P.; KIPPER, M. J. Coating cortical bone allografts with periosteum-mimetic  
1857 scaffolds made of chitosan, trimethyl chitosan, and heparin. **Carbohydrate**  
1858 **Polymers**, v. 122, p. 144-151, 2015.

1859

1860 RUFATO, K. B.; ALMEIDA, V. C.; KIPPER, M. J.; RUBIRA, A. F.; MARTINS,  
1861 A. F.; MUNIZ, E. C. Polysaccharide-based adsorbents prepared in ionic liquid with  
1862 high performance for removing Pb(II) from aqueous systems. **Carbohydrate**  
1863 **Polymers**, v. 2015, p. 272-279, 2019.

1864

1865 SAEKHOR, K.; UDOMSINPRASERT, W.; HONSAWEK, S.;  
1866 TACHABOONYAKIAT, W. Preparation of an injectable modified chitosan-based  
1867 hydrogel approaching for bone tissue engineering. **International Journal of**  
1868 **Biological Macromolecules**, v. 123, p. 167-173, 2019.

1869

1870 SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; OLIVEIRA, L. M.; PADULA, M.; COLTRO,  
1871 L.; ALVES, R. M. V.; GARCIA, E. E. C. **Embalagens Plásticas Flexíveis –**  
1872 **Principais Polímeros e Avaliação de Propriedades**. Campinas: CETEA, 2002.  
1873 267 p.

1874

- 1875 SARTORI, T.; FELTRE, G.; SOBRAL, P. J. A.; CUNHA, R. L.; MENEGALLI,  
1876 F. C. Properties of films produced from blends of pectin and gluten. **Food Packaging**  
1877 **and Shelf Life**, v. 18, p. 221-229, 2018.
- 1878
- 1879 SHAHBAZI, Y. The properties of chitosan and gelatin films incorporated with  
1880 ethanolic red grape seed extract and *Ziziphora clinopodioides* essential oil as  
1881 biodegradable materials for active food packaging. **International Journal of**  
1882 **Biological Macromolecules**, v. 99, p. 746-753, 2017.
- 1883
- 1884 SINGH, R. S.; KAUR, N.; KENNEDY, J. F. Pullulan production from agro-  
1885 industrial waste and its applications in food industry: A review. **Carbohydrate**  
1886 **Polymers**, v. 217, p. 46-57, 2019.
- 1887
- 1888 SIRACUSA, V.; ROMANI, S.; GIGLI, M.; MANNOZZI, C.; CECCHINI, J. P.;  
1889 TYLEWICZ, U.; LOTTI, N. Characterization of Active Edible Films based on Citral  
1890 Essential Oil, Alginate and Pectin. **Materials**, v. 11, n. 1980, p. 1-14, 2018.
- 1891
- 1892 SIRIPATRAWAN, U.; VITCHAYAKITTI, W. Improving functional properties  
1893 of chitosan films as active food packaging by incorporating with propolis. **Food**  
1894 **Hydrocolloids**, v. 61, p. 695-702, 2016.
- 1895
- 1896 SONG, E-H.; SHANG, J.; RATNER, D. M. Polysaccharides. **Polymer**  
1897 **Science: A Comprehensive Reference**, v. 9, p. 137-155, 2012.
- 1898
- 1899 SONI, B.; MAHMOUD, B.; CHANG, S.; EL-GIAR, E. M.; HASSAN, E. B.  
1900 Physicochemical, antimicrobial and antioxidant properties of chitosan/TEMPO  
1901 biocomposite packaging films. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 17, p. 73-79,  
1902 2018.
- 1903
- 1904 SOUTO-MAIOR, J. F. A.; REIS, A. V.; PEDREIRO, L. N.; CAVALCANTI, O.  
1905 A.; Phosphated crosslinked pectin as a potential excipient for specific drug delivery:  
1906 Preparation and physicochemical characterization. **Polymer International**, v. 59, n.  
1907 1, p. 127-135, 2010.

- 1908 SUDERMAN, N.; ISA, M, I. N.; SARBON, N. M. The effect of plasticizers on  
1909 the functional properties of biodegradable gelatin-based film: A review. **Food**  
1910 **Bioscience**, v. 24, p. 111-119, 2018.
- 1911
- 1912 TAN, H. W.; AZIZ, A. R. A.; AROUA, M. K. Glycerol production and its  
1913 applications as a raw material: A review. **Renewable and Sustainable Energy**  
1914 **Reviews**, v. 27, p. 118-127, 2013.
- 1915
- 1916 TAN, Y. M.; LIM, S. H.; TAY, B. Y.; LEE, M. W.; THIAN, E. S. Functional  
1917 chitosan-based grapefruit seed extract composite films for applications in food  
1918 packaging technology. **Materials Research Bulletin**, p. 1-5, 2014.
- 1919
- 1920 TSAI, R-Y.; CHEN, P-W.; KUO, T-Y.; LIN, C-M.; WANG, D-M.; HSIEN, T-Y.;  
1921 HSIEH, H-J. Chitosan/pectin/gum Arabic polyelectrolyte complex: Process-  
1922 dependent appearance, microstructure analysis and its applications. **Carbohydrate**  
1923 **Polymers**, v. 101, p. 752-759, 2014.
- 1924
- 1925 TENTOR, F. R.; OLIVEIRA, J. H.; SCARIOT, D. B.; LAZARÍN-BIDÓIA, D.;  
1926 BONAFÉ, E. G.; NAKAMURA, C. V.; VENTER, S. A. S.; MONTEIRO, J. P.; MUNIZ,  
1927 E. C.; MARTINS, A. F. Scaffolds based on chitosan/pectin thermosensitive  
1928 hydrogels containing gold nanoparticles. **International Journal of Biological**  
1929 **Macromolecules**, v. 102, p. 1186-1194, 2017.
- 1930
- 1931 TRIPATHI, S.; MEHROTRA, G. K.; DUTTA, P. K. Preparation and  
1932 physicochemical evaluation of chitosan /poly (vinyl alcohol)/pectin ternary film for  
1933 food-packaging applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 79, p. 711-716, 2010.
- 1934
- 1935 ULLAH, F.; OTHMAN, M. B. H.; JAVED, F.; AHMAD, Z.; AKIL, H. M.  
1936 Classification, processing and application of hydrogels: A review. **Materials Science**  
1937 **and Engineering C**, v. 57, p. 414-433, 2015.
- 1938

- 1939           VIEIRA, M. G. A.; SILVA, M. A.; SANTOS, L. O.; BEPPU, M. M. Natural-  
1940 based plasticizers and biopolymer films: A review. **European Polymer Journal**, v.  
1941 47, p. 254-263, 2011.
- 1942
- 1943           VITALE, G.; MOSNA, D.; BOTTANI, E.; MONTANARI, R.; VIGNALI, G.  
1944 Environmental impact of a new industrial process for the recovery and valorisation  
1945 of packaging materials derived from packaged food waste. **Sustainable Production**  
1946 **and Consumption**, v. 14, p. 105-121, 2018.
- 1947
- 1948           WU, S.; WANG, W.; YAN, K.; DING, F.; SHI, X.; DENG, H.; DU, Y.  
1949 Electrochemical writing on edible polysaccharide films for intelligent food packaging.  
1950 **Carbohydrate Polymers**, v. 186, p. 236-242, 2018.
- 1951
- 1952           XU, J.; XIA, R.; ZHENG, L.; YUAN, T.; SUN, R. Plasticized  
1953 hemicelluloses/chitosan-based edible films reinforced by cellulose nanofiber with  
1954 enhanced mechanical properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 224, p. 1-9, 2019.
- 1955
- 1956           YANG, L.; PAULSON, A. T. Mechanical and water vapour barrier properties  
1957 of edible gellan films. **Food Research International**, v. 33, p. 563-570, 2000.
- 1958
- 1959           YOUNIS, H. G. R.; ZHAO, G. Physicochemical properties of the edible films  
1960 from the blends of high methoxyl apple pectin and chitosan. **Biological**  
1961 **Macromolecules**, v. 131, p. 1057-1066, 2019.
- 1962
- 1963           YOUSSEF, A. M.; EL-SAYED, S. M. Bionanocomposites materials for food  
1964 packaging applications. Concepts and future outlook. **Carbohydrate Polymers**, v.  
1965 193, p. 19-27, 2018.